

UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS
MAESTRÍA SISTEMAS SOSTENIBLES DE SALUD
PRODUCCIÓN ANIMAL TROPICAL

**DETERMINACION DE HIDROCARBUROS
AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN LECHE CRUDA
BOVINA COLECTADA EN LOS CENTROS DE ACOPIO
DE CUMARAL Y GUAMAL DEPARTAMENTO DEL
META**

GLORIA DERLY TOVAR BOHORQUEZ

Villavicencio, Meta - Colombia

Mayo de 2019

**DETERMINACION DE HIDROCARBUROS
AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN LECHE CRUDA
BOVINA COLECTADA EN LOS CENTROS DE ACOPIO
DE CUMARAL Y GUAMAL DEPARTAMENTO DEL
META**

GLORIA DERLY TOVAR BOHORQUEZ

Tesis presentada como requisito
parcial para la obtención del título
de Magister en Sistemas
Sostenibles de Salud Producción
Animal Tropical

**YOHANA MARÍA VELASCO SANTAMARÍA
MV, MSc, PhD**

**Villavicencio, Meta - Colombia
2019**

**DETERMINACION DE HIDROCARBUROS
AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN LECHE CRUDA
BOVINA COLECTADA EN LOS CENTROS DE ACOPIO
DE CUMARAL Y GUAMAL DEPARTAMENTO DEL
META**

GLORIA DERLY TOVAR BOHORQUEZ

Tesis presentada como requisito
parcial para la obtención del título
de Magister en Sistemas
Sostenibles de Salud Producción
Animal Tropical

Aprobada en 25/04/2019

Comisión examinadora:

Profesor José Edwin Mojica Ramírez – MVZ MSc DSc Producción Animal

Profesora Adriana Janneth Espinosa Ramírez (PhD)– Universidad
Pedagógica y Tecnológica de Colombia

Profesora Yohana María Velasco Santamaría (PhD) – Universidad de los
Llanos

Orientadora

DEDICATORIA

A mis padres, por estar siempre.

A mis hermanos para que sigan esforzándose día a día por sus familias que son lo más importante

A mi esposo, por el camino que hemos recorrido juntos.

A mis hijas María Camila y María Paz, por ser un pedacito de mi vida, uno grandecito y otro pequeñito que siempre estarán conmigo, que cada día me regalan más sueños para cumplir, y a las que quiero apoyar para que alcancen los suyos.

A mi gran familia que ha sido parte importante de cada una de las etapas de mi vida y que me llena de orgullo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme llegar hasta acá.

A la Universidad de los Llanos por aportar en mi formación profesional.

A mi orientadora la profesora Yohana por su apoyo constante y su liderazgo para hacerme ver que todo es posible, y si no por lo menos se intentó.

A los profesores por su conocimiento que contribuyó a llevar ésta etapa a feliz término.

Al profesor Boris Johnson por permitirme participar en el laboratorio que él lidera, por su conocimiento y apoyo para poder culminar mi trabajo.

A todas las personas con las que he compartido, de las que he aprendido y valió la pena conocer.

BIOGRAFIA

Gloria Derly Tovar Bohórquez, nació en la ciudad de Villavicencio-Meta, hacia el año 1972; según su madre Julia Esneda el día 27 de Julio, aunque según sus documentos legales eso ocurrió el día 31 de Julio; su padre José Augusto, quien no comenta mucho porque dejó el 99% de la educación de sus hijos a su esposa.

Su preescolar y primaria hasta el grado cuarto lo cursó en el colegio Sagrado Corazón de Jesús, el grado quinto en la concentración escolar Antonio Villavicencio; todo por las vueltas que da la vida que no permitieron terminar la primaria en el mismo colegio, pero que trajo grandes momentos que le dieron herramientas valiosas para la vida.

Su bachillerato lo realizó en el colegio INEM” Luis López de Mesa” donde finalizó el grado 11 en el año 1988, para continuar en el año 1989 con su formación universitaria en la Universidad de los Llanos, donde obtuvo su título de Médico Veterinario Zootecnista en el año 1996. Inicia su vida profesional vinculada a la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria “CORPOICA”, pero su deseo era ser emprendedora, entonces crea junto con dos profesionales de la misma área un proyecto que logra grandes éxitos, pero del cual decide retirarse en el año 2001.

En el año 2003 se vincula a la Universidad de los Llanos para apoyar el proceso de acreditación de alta calidad del programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia hasta el año 2007, cuando ingresa al INVIMA y posteriormente al ICA Seccional Meta donde labora actualmente.

En el año 2005 continúa su formación adelantando estudios en la especialización Gestión Ambiental Sostenible y en el año 2014 el programa de Maestría en Sistemas Sostenibles Salud Producción Animal Tropical programas de la Universidad de los Llanos.

Madre de dos preciosas hijas de 18 y 6 años y esposa de un hombre con quien no comparte afinidad profesional ya que es ingeniero civil, pero con quien comparte el mejor proyecto de su vida, su familia.

RESUMEN

Este estudio se llevó a cabo en los municipios de Guamal y Cumaral del Departamento del Meta. Un total de 87 muestras de leche cruda fueron tomadas en carros recolectores y silos de almacenamiento, entre los años 2014 y 2015, durante las épocas de aguas bajas, altas, ascendentes y descendentes. Las variables físico químicas analizadas fueron: temperatura, acidez, pH, densidad, grasa, proteína, sólidos no grasos e índice crioscópico. La determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos HAPs se realizó en 44 muestras de leche, mediante la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Los datos obtenidos se expresaron como media \pm error estándar de la media (SEM). Se realizó análisis de correlación entre las características físico-químicas y las concentraciones de HAPs. Los valores de las características fisicoquímicas se encuentran según los establecidos en el decreto 616 de 2006 normatividad sanitaria vigente para Colombia. La Σ HAPs detectados fue de 7.91 ± 1.12 , siendo el antraceno (2.99 ± 0.520 ng/g de leche), fenantreno (1.68 ± 0.297 ng/g de leche), pireno (1.01 ± 0.247 ng/g de leche) y fluoranteno (0.83 ± 0.206 ng/g de leche), los HAPs con niveles más altos en las muestras analizadas. La tendencia presentada según el número de anillos se mantuvo tanto por municipio, acopio, época y año evaluado estando los HAPs de 2 y 3 anillos presentes en mayor porcentaje, seguido por los HAPs de 4 anillos y por último los HAPs de 5 y 6 anillos.

El objetivo del presente estudio fue determinar el nivel de 23 HAPs en leche cruda bovina incluyendo los 16 contaminantes prioritarios (Environmental Protection Agency 2006), en muestras colectadas en dos áreas productoras de leche en el Departamento del Meta (Colombia), asociado a la contaminación ambiental por HAPs y los posibles riesgos ante el consumo por parte de la población humana.

Palabras claves: contaminantes orgánicos, cromatografía de gases, inocuidad, leche cruda.

LISTA DE TABLAS

TABLA 1. CARACTERÍSTICAS CLIMATOLÓGICAS DE CUMARAL Y GUAMAL Y GEOPOSICIÓN DE LOS CENTROS DE ACOPIO.....	55
TABLA 2. CARACTERÍSTICAS DE LECHE CRUDA ACOPIADA EN LOS MUNICIPIOS DE CUMARAL Y GUAMAL EN EL DEPARTAMENTO DEL META (N=87). DATOS EXPRESADOS COMO MEDIA \pm SEM, CON SUS VALORES MÍNIMOS Y MÁXIMOS.	67
TABLA 3. CARACTERÍSTICAS DE VOLUMEN, TEMPERATURA Y PH DE LECHE CRUDA COLECTADA EN MUNICIPIOS DEL DEPARTAMENTO DEL META Y MEDINA DEL DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA. DATOS EXPRESADOS COMO MEDIA \pm SEM.....	68
TABLA 4. CARACTERÍSTICAS FÍSICO - QUÍMICAS (GRASA, SNG Y DENSIDAD) DE LECHE CRUDA COLECTADA EN MUNICIPIOS DEL DEPARTAMENTO DEL META Y MEDINA DE CUNDINAMARCA. DATOS EXPRESADOS COMO MEDIA \pm SEM.	69
TABLA 5. CARACTERÍSTICAS FÍSICO - QUÍMICAS (ACIDEZ, PROTEÍNA, ST E ÍNDICE CRIOSCÓPICO) DE LECHE CRUDA COLECTADA EN MUNICIPIOS DEL DEPARTAMENTO DEL META. DATOS EXPRESADOS COMO MEDIA \pm SEM.....	70
TABLA 6. CARACTERÍSTICAS DE LECHE CRUDA COLECTADA EN MUNICIPIOS DEL DEPARTAMENTO DEL META SEGÚN ÉPOCA DEL AÑO. DATOS EXPRESADOS COMO MEDIA \pm SEM.	71
TABLA 7. CARACTERÍSTICAS DE LECHE CRUDA COLECTADA EN DOS PUNTOS DE ACOPIO DEL DEPARTAMENTO DEL META. DATOS EXPRESADOS COMO MEDIA \pm SEM.	72
TABLA 8. CONCENTRACIÓN DE HAPS EN NG/G DE LECHE CRUDA, SEGÚN LUGAR DE ACOPIO (VALORES EXPRESADOS COMO MEDIA \pm ERROR ESTÁNDAR DE LA MEDIA).....	76
TABLA 9. RATIOS DIAGNÓSTICOS SEGÚN NIVELES DE HAPS DETECTADOS EN LECHE CRUDA EN LOS MUNICIPIOS DEL DEPARTAMENTO DEL META	83

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.A, B. REACTIVOS Y C, D LAVADO Y SECADO MATERIAL PARA TOMA DE MUESTRAS HAPS.....	57
FIGURA 2. TOMA DE MUESTRAS DE LECHE, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO: A. ELEMENTOS PARA TOMA DE MUESTRAS DE LECHE CRUDA, B, C SILOS Y CANTINAS DE ALMACENAMIENTO DE LECHE CRUDA, D, E TOMA DE MUESTRAS DE LECHE CANTINAS Y SILO DE ALMACENAMIENTO F. TRANSPORTE DE MUESTRAS REFRIGERADAS.....	58
FIGURA 3. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO DE LECHE CRUDA Y ALMACENAMIENTO MUESTRAS PARA POSTERIOR ANÁLISIS DE HAPS: A) TOMA PH LECHE, B) ANÁLISIS PUNTO CRIOSCÓPICO LECHE, C) LACTOSCAN ANÁLISIS LECHE, D) ACIDEZ TITULABLE, E) SISTEMATIZACIÓN INFORMACIÓN, F) MUESTRAS ANÁLISIS, G) ALMACENAMIENTO DE LECHE CRUDA, H) MUESTRAS DE LECHE EN CONGELACIÓN, I) MUESTRAS DE LECHE IDENTIFICADAS PARA ANÁLISIS.....	61
FIGURA 4. EXTRACCIÓN Y LIMPIEZA DE LA MUESTRA, A, B SAPONIFICACIÓN DE LA MUESTRA DE LECHE, C EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA, D MUESTRA PARA INYECCIÓN.....	64
FIGURA 5. EQUIPO DETERMINACIÓN DE HAPS, A CROMATÓGRAFO DE GASES ACOPLADO A ESPECTROMETRÍA DE MASAS, B AUTOMUESTREADOR, C SOFTWARE	65
FIGURA 6. PORCENTAJE DE MUESTRAS CON PRESENCIA DE CADA UNO DE LOS HAPS DETECTADOS EN LAS 44 MUESTRAS DE LECHE CRUDA BOVINA ANALIZADA.....	73
FIGURA 7. CONCENTRACIÓN DE LOS HAPS DETECTADOS EN MUESTRAS LECHE CRUDA DEL DEPARTAMENTO DEL META (2014 - 2015). DATOS EXPRESADOS COMO MEDIA Y ERROR ESTÁNDAR DE LA MEDIA.	74
FIGURA 8. GRÁFICO COMPONENTES PRINCIPALES DE HAPS EN LECHE CRUDA, MUESTRAS COLECTADAS EN DOS CENTROS DE ACOPIO DEL DEPARTAMENTO DEL META.	77

FIGURA 9. CONCENTRACIÓN DE Σ HAPS 2 Y 3 ANILLOS, Σ HAPS 4 ANILLOS, Σ HAPS 5 Y 6 ANILLOS EN LECHE CRUDA SEGÚN MUNICIPIO (DATOS EXPRESADOS COMO MEDIA \pm SEM). 78

FIGURA 10. CONCENTRACIÓN NIVELES DE Σ HAPS 2 Y 3 ANILLOS, Σ HAPS 4 ANILLOS, Σ HAPS 5 Y 6 ANILLOS EN LECHE CRUDA SEGÚN PUNTO DE ACOPIO (DATOS EXPRESADOS COMO MEDIA \pm SEM). 79

FIGURA 11. CONCENTRACIÓN DE Σ HAPS 2 Y 3 ANILLOS, Σ HAPS 4 ANILLOS, Σ HAPS 5 Y 6 ANILLOS EN LECHE CRUDA SEGÚN ÉPOCA DEL AÑO (DATOS EXPRESADOS COMO MEDIA \pm SEM). 80

FIGURA 12. CONCENTRACIÓN DE Σ HAPS 2 Y 3 ANILLOS, Σ HAPS 4 ANILLOS, Σ HAPS 5 Y 6 ANILLOS EN LECHE CRUDA SEGÚN AÑO DE MUESTREO (DATOS EXPRESADOS COMO MEDIA \pm SEM). 81

TABLA DE CONTENIDO

Tabla de contenido.....	12
1. INTRODUCCION.....	14
2. OBJETIVOS	16
2.1. <i>OBJETIVO GENERAL</i>	16
2.2. <i>OBJETIVOS ESPECIFICOS</i>	16
3. HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN LECHE DE RUMIANTES	17
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	55
4.1. UBICACIÓN Y PERIODO DE MUESTREO.....	55
4.2. PREPARACION DEL MATERIAL TOMA DE MUESTRA	56
4.3. TOMA DE MUESTRAS RUTAS DE LECHE Y SILO DE ALMACENAMIENTO	57
4.4. ANALISIS COMPOSICIONAL FISICOQUÍMICO	59
4.5. METODO PARA LA DETERMINACIÓN DE HAPS EN LECHE BOVINA CROMATOGRFÍA DE GASES (GC) ACOPLADO A ESPECTROMETRÍA DE MASAS (MS)	62
4.5.1. REACTIVOS:.....	62
4.5.2. PREPARACIÓN DEL MATERIAL DE VIDRIO.....	62
4.5.3. EXTRACCIÓN Y LIMPIEZA DE LA MUESTRA	63
4.5.4. ANÁLISIS DE LA MUESTRA	64
4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	65
5.1. CARACTERÍSTICAS COMPOSICIONALES DE LA LECHE CRUDA	66
5.2. HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (HAPS) EN LECHE CRUDA BOVINA	72
6. DISCUSIÓN	83
6.1. CARACTERÍSTICAS COMPOSICIONALES DE LA LECHE	83
6.2. HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN LA LECHE CRUDA.....	90
7. CONCLUSIONES	98

8. RECOMENDACIONES	100
9. BIBLIOGRAFÍA	101

1. INTRODUCCION

A nivel mundial la producción de leche ha revestido especial interés y ha llevado a un aumento en la creación de políticas mundiales para combatir el hambre, al igual que la seguridad alimentaria en todas las etapas de producción bajo políticas de guardar la integridad desde la granja a la mesa, además de promover su protección en especial para suplir las necesidades de demandas mundiales en la alimentación humana y especialmente a edades tempranas (Arellano *et al.*, 2014). A nivel del consumidor también se ha presentado un aumento en el consumo de leche, probablemente debido a la oportunidad de adquirirlos, el aumento de los ingresos, el crecimiento demográfico, la urbanización o diferentes cambios en el régimen de alimentación (Muehlhoff *et al.*, 2013)

El consumo per cápita de leche sugerido por la OMS, está establecido en 160 L/año y dependiente de la edad a partir del primer año de vida y siendo mayor en los países desarrollados (FAO/OMS, 2006). En Colombia para el año 2017 se reporta un consumo promedio anual de 70 L/día de leches líquidas y de 145 L/año en todo el sector que incluye los derivados lácteos (ASOLECHE, 2018). Por ser un alimento de gran consumo por la población reviste interés para evaluar la exposición a contaminantes, en especial por la facilidad para obtener muestras para análisis y por su característica de una alta proporción de lípidos donde diferentes compuestos lipofílicos como los organoclorados persistentes y los HAPs, entre otros, pueden acumularse (Dobrinás *et al.*, 2016), se han propuesto estrategias para disminuir el riesgo de contaminación química de los sistemas productivos primarios recomendando establecer dentro de los planes de ordenamiento territorial zonas que se encuentren distantes de industrias o similares que eviten la contaminación con dioxinas, furanos o HAPs (Acosta *et al.*, 2011).

El departamento del Meta se ha destacado por su participación en el desarrollo agropecuario y en los últimos años por la incursión en el renglón de la producción de leche bajo el sistema de producción doble propósito. Es un departamento donde se han establecido industrias de alimentos para animales, procesamiento

de la palma de aceite, establecimiento de monocultivos de gran extensión, así como el sector minero energético a través de la explotación petrolera como renglón de importancia para la economía regional, siendo el primer productor de petróleo a nivel nacional.

Este estudio plantea la hipótesis que al existir una fuente importante generadora de HAPs en el departamento del Meta, como la explotación petrolera la leche cruda producida puede contener contaminantes químicos.

El objetivo de este trabajo fue conocer si la leche cruda está contaminada con hidrocarburos aromáticos policíclicos, cuáles son esos HAPs y si los niveles detectados representarían riesgo para la salud de los consumidores.

BIBLIOGRAFIA

Acosta N., Castilla Y., Cortes M., Correa D., Oviedo J., Gamboa Y. 2011. Identificación de riesgos químicos asociados al consumo de leche cruda bovina en Colombia. Ministerio de salud y Protección Social. Unidad de Evaluación de Riesgos para la Inocuidad de los Alimentos. 1:

Arellano F.E., Alvarez Gonçalves C.V., Pérez Carrera A.L., Calzetta Resio A.N., Fernandez Cirelli A. 2014. Presencia de elementos traza inorgánicos de importancia nutricional en leche de rumiantes.

ASOLECHE; Precio por litro de leche pagado al productor 2018; 2018; <https://asoleche.org/leche-en-cifras/>

Dobrinas S., Soceanu A., Popescu V., Coatu V. 2016. Polycyclic aromatic hydrocarbons and pesticides in milk powder. Journal of Dairy Research. 83: 261-265.

FAO/OMS. 2006. Programa Conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Propuestas. 4: 25.

Muehlhoff E., Bennett A., McMahon D. 2013. Milk and dairy products in human nutrition. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO),

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos aromáticos (HAPs) en leche cruda bovina, provenientes de dos centros de acopio y de algunos municipios proveedores de leche del Departamento del Meta.

2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

Determinar las características físico-químicas en leche bovina colectada en el Departamento del Meta y su correlación con la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos.

Determinar la concentración de 23 hidrocarburos aromáticos policíclicos en leche cruda bovina proveniente de dos centros de acopio del Departamento del Meta.

3. HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN LECHE DE RUMIANTES

Tovar-Bohórquez Gloria Derly^{1,2} MVZ, cMSc, Yohana María Velasco Santamaría²

MV, MSc, PhD

¹Universidad de los Llanos

² Grupo de investigación en Biotecnología y Toxicología Acuática y Ambiental -

BioTox, Escuela de Ciencias Animales, Facultad de Ciencias Agropecuarias y

Recursos Naturales

SUMMARY

The milk of different animal species is used for human food, especially for children, and is also a source of nutrients with toxicological importance are the polycyclic aromatics hydrocarbons (PAHs), widely distributed in the environment and found naturally in fossil such as coal and oil. They are also generated in that natural environment as a result of volcanic eruptions, the burning of forest and forest fires. PAHs are the result of incomplete combustion (pyrolysis) of organic matter suchs as wood, coal, petroleum transformation, industrial activities, heating systems, gasoline and diesel vehicles emissions. Another source is tobacco and different processes of cooking food or heat treatments. These compounds are found in complex mixtures and distributed in all environmental compartments: air, soil, sediments, biological tissues and food. They enter the animals through different routes (cutaneous, respiratory, digestive) and are subject to metabolic processes to be excreted by the liver and the biliary system, the kidney, the digestive system and other minor routes such as the pancreas, saliva, lung, milk and tears. This review seeks to address aspects of PAHs, sources four ruminants milk producing animals, their metabolism, determination techniques, detection methods and their effects on consumer health, given their importance for the region of the department of Meta before the transformation of primary agricultural production system to levels of industrialization and the presence of the energy mining sector with oil exploitation.

RESUMEN

La leche de diferentes especies animales es utilizada para la alimentación humana en especial de niños, siendo además de fuente de nutrientes un medio susceptible de contaminación por agentes físicos, biológicos y de naturaleza química. Dentro de las sustancias químicas con importancia toxicológica se encuentran los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), ampliamente distribuidos en el medio ambiente y que se encuentran en forma natural en los combustibles fósiles como el carbón y el petróleo. Igualmente se generan en ese ambiente natural como resultado de las erupciones volcánicas, la quema de los bosques y los incendios forestales. Los HAPs son el resultado de la combustión incompleta (pirolisis) de materia orgánica como la madera, el carbón, la transformación del petróleo, actividades industriales, sistemas de calefacción, emisiones de vehículos a gasolina y diesel. Otra fuente la constituye el tabaco y diferentes procesos de cocción de los alimentos o tratamientos térmicos. Estos compuestos se encuentran en mezclas complejas y distribuidos en todos los compartimentos ambientales: el aire, suelos, sedimentos, tejidos biológicos y alimentos. Ingresan a los animales por diferentes vías (cutánea, respiratoria, digestiva) y son sometidos a procesos metabólicos para ser excretados por el hígado y su sistema biliar, el riñón, el sistema digestivo y otras vías menores como el páncreas, saliva, pulmón, la leche y las lágrimas. Esta revisión busca abordar aspectos de los HAPs, las fuentes para los animales rumiantes productores de leche, su metabolismo, las técnicas de determinación, métodos de detección y sus efectos en la salud de los consumidores, dada su importancia para la región del departamento del Meta ante la transformación de sistemas de producción primaria agropecuaria a niveles de industrialización y presencia del sector minero energético con la explotación petrolera.

Palabras claves: evaluación de riesgos, GC, HPLC, leche cruda, petróleo.

Key words: risk assessment, GC, HPLC, raw milk, oil.

HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), son compuestos orgánicos ampliamente distribuidos en el medio ambiente y caracterizados por contener dos o más anillos de benceno unidos entre sí (Kim *et al.*, 2013), se clasifican como ligeros los que contienen 2 o 3 anillos y pesados los que tienen de 4 a 6 anillos, siendo éstos últimos más estables y más tóxicos (Purcaro *et al.*, 2013). Dentro de sus propiedades físico químicas están su alto punto de fusión y ebullición, baja presión de vapor, muy baja solubilidad en agua, solubilidad en solventes orgánicos y altamente lipofílicos (Duedahl-Olesen, 2013), con propiedades tóxicas, persistentes y bioacumulativos, así como la propiedad de transporte transfronterizo de largo alcance y deposición con efectos negativos sobre el medio ambiente (Guiavarc'h *et al.*, 2010). Se encuentran presentes en forma natural en el petróleo crudo, carbón, alquitrán y diversos productos de la refinería; se generan por la combustión incompleta de los combustibles fósiles o cualquier materia orgánica (pirolisis) y están presentes en el humo procedente de las quemas o combustión natural como las erupciones volcánicas o incendios forestales, diferentes en cuanto a su volatilidad y poseen la capacidad de adsorción a partículas atmosféricas (Aydin *et al.*, 2014). Una de las principales fuentes de los HAPs en el medio ambiente son las actividades del hombre (acción antropogénica) como la combustión en centrales térmicas, calderas de calefacción industrial, combustión de residuos, emisión de vehículos y el humo del tabaco (Duedahl-Olesen, 2013). Otra fuente importante son los alimentos (Purcaro *et al.*, 2013; Vives *et al.*, 2001), tanto en su forma natural como granos, te, café, carnes y verduras (Lee *et al.*, 2018), así como su formación durante diferentes métodos de cocción (Xia *et al.*, 2010) y en algunos los tratamientos de higienización.

Al estar presentes en el medio ambiente, suelo, pasturas y el aire, pueden ingresar al ser vivo por varias vías como inhalación, ingestión o contacto y encontrarse en los tejidos animales y ser eliminado por la leche. Su efecto tóxico está dado en un 90% por la exposición de la piel, la respiración y las vías orales

(Guiavarc'h *et al.*, 2010), generalmente pueden presentarse en mezclas que contengan dos o más compuestos (Martorell *et al.*, 2010). La leche por su contenido de grasa es ideal para disolver estos contaminantes ambientales (Kampire *et al.*, 2011) y como muchos otros tóxicos también son susceptibles de bioacumulación. (Bianchi *et al.*, 2008).

Los HAPs son clasificados como contaminantes orgánicos persistentes y cualquier exposición a éstos compuestos se considera de riesgo, pueden tener propiedades genotóxicas, mutagénicas, teratogénicas y carcinogénicas (Ifegwu y Anyakora, 2015); sin embargo, también han sido asociados a otros efectos como pérdida de peso, toxicidad reproductiva, crecimiento retardado, déficit de inteligencia y coeficiente intelectual, y en el caso específico del benzo (a) antraceno, benzo (a) pireno, dibenzo (a,h) antraceno y naftaleno su toxicidad se presenta por la embrioletalidad, el bajo peso fetal y las malformaciones (Al-Saleh *et al.*, 2013).

FUENTES DE LOS HIDROCARBUROS

La formación de los HAPs está determinada por cuatro vías: transformación de materia orgánica con cambios en las biomoléculas que se da posterior a la deposición inicial de sedimentos, a temperaturas inferiores a 70°C y en un tiempo de días a años (diagénesis), por la formación lenta de los combustibles fósiles: petróleo y carbón a largo plazo y a temperaturas de 100 a 300 °C (*petrogénicos*), por la producción rápida debida a combustión incompleta de la materia orgánica (*pirogénicos*) a temperaturas >500°C siendo esta la principal fuente de origen natural (incendios forestales y de pasturas), y por la vía de síntesis en organismos como plantas y animales que originan compuestos individuales o sus mezclas simples (Boehm, 1964). El origen antropogénico de los HAPs es uno de los más comunes, y son generados por la combustión de combustibles en vehículos de motor, al igual que los sistemas de calefacción (Huzlik *et al.*, 2017). Otra de las fuentes de los HAPs la constituyen los alimentos y sus procesos de cocción, donde se ha reportado la presencia de fluoranteno, benzo (a) fluoranteno y benzo

(a) pireno en mayores niveles al utilizar la parrilla al carbón (Farhadian *et al.*, 2010).

Existen algunos HAPs que son producidos comercialmente como: el fluoranteno, acenaftaleno, fluoreno y un derivado del antraceno; la acridina. Se emplean igualmente en la producción de productos farmacéuticos, colorantes y pigmentos, algunos están presentes en formulaciones médicas como los antimaláricos basados en el fenantreno, los beta bloqueadores basados en el naftaleno y analgésicos como el naproxeno (Ifegwu y Anyakora, 2015).

La presencia de HAPs en el medio ambiente, tanto urbano como rural, está asociada con las quemas de vegetación en calles y terrenos baldíos y áreas rurales, los incendios forestales y las quemas de pasturas, al igual que los sitios de producción de carbón (Ré-Poppi y Santiago-Silva, 2005), siendo mayores las concentraciones en áreas urbanas, al igual que en las zonas industrializadas y de mayor tráfico; sin embargo, se han encontrado altos niveles que indican exposición del ganado a HAPs al determinarse metabolitos hidroxilados de HAPs (OH-HAPs) en orina de animales criados en áreas rurales de uso agrícola con quemas de arbustos y uso de pesticidas (Bortey-Sam *et al.*, 2016). En relación a la temperatura ambiente se reportan mayores concentraciones durante las épocas de invierno asociadas al uso de la calefacción en países con estaciones (Cetin *et al.*, 2018), y su presencia en leche materna coincide con las áreas de mayor contaminación atmosférica, siendo los hidrocarburos principalmente encontrados el fenantreno, fluoranteno y benzo (a) pireno (Pulkrabova *et al.*, 2016).

Se considera que alrededor de un tercio de los hidrocarburos del petróleo son aromáticos y pueden ser acumulados por diversas especies de animales en sus tejidos lo que depende del hidrocarburo, la concentración, la capacidad de metabolización, retención y excreción del organismo (Quddus Khan *et al.*, 2005).

A nivel del departamento del Meta, se ha observado en los últimos años la implementación de agroindustrias como: molinos de arroz, plantas de procesamiento de palma de aceite, soya, combustión para producción de biodiesel, elaboración de panela, procesos de secado y la obtención de granos para suplementos de uso animal, todas ellas pueden constituirse en fuentes de hidrocarburos al medio ambiente, que pueden ser ingeridos por los animales o contaminar de manera directa productos como la leche; además en la alimentación animal durante las épocas de escasez de pasturas se utilizan fuentes alternativas como granos, tortas, semillas, harinas, que provienen de procesos de industrialización como los mencionados anteriormente que se obtienen a partir de procesos químicos y físicos con sometimiento a altas temperaturas que pueden implicar la generación de HAPs en esas materias primas que son ingeridas por los animales. En zona aún es común en las explotaciones rurales el uso para la cocción, la combustión de madera y carbón. Otra posible fuente de contaminación proviene de prácticas zootécnicas como el marcado de los animales con hierro caliente cuya fuente de calor es el gas (Experiencia y vivencia personal Tovar., Gloria, 2019).

Estudios realizados en China evaluando áreas cercanas a centrales eléctricas operadas con carbón revelan que granos de trigo cultivados en época de invierno presentaron niveles elevados de HAPs por contaminación del medio ambiente y del suelo, siendo para las cuatro regiones evaluadas de 5.7, 6.4, 18.9 y 22.5 veces mayor a los límites máximos de 1.0 µg/kg de benzo (a) pireno sugerido por la normatividad en las muestras analizadas (Tian *et al.*, 2018).

Otra fuente de importancia para los rumiantes la constituye el suelo, que debido a sus características físicas y químicas, como el tamaño de sus partículas, el contenido de carbono, y el porcentaje de arcilla presente, puede determinar el grado en que los contaminantes son adsorbidos y en qué medida éstos se encuentran biodisponibles en el rumen (Ounnas *et al.*, 2009), así como su

exposición a HAPs producto de la liberación de explotaciones petroleras y de gas natural en áreas cercanas a granjas (Ramesh *et al.*, 2012).

De igual modo la explotación petrolera puede ser otra fuente de HAPs, tanto por sus procesos industriales como también por los posibles derrames a fuentes de agua y al medio ambiente. A este respecto, se reporta la presencia de HAPs en suelos de áreas cercanas a pozos petroleros en China, pero distantes de otras fuentes como asfaltos, bloques de alquitrán y sin evidencia de derrames de petróleo, con niveles promedio de Σ HAPs de 382.5 ± 128.4 ng/g, donde el criseno, fenantreno y pireno representaron el 20.6%, 19.7% y 9.7%, respectivamente, del total de los HAPs en cuatro décadas evaluadas; así mismo los hidrocarburos, de bajo peso molecular durante los primeros años de explotación y posteriormente los de mayor peso molecular; y al evaluar la proporción individual de los HAPs se pudo confirmar la probable contaminación del suelo de origen petrogénico dadas las características del área estudiada (Fu *et al.*, 2018). También para la India, al evaluar áreas cercanas a industrias de refinería y deposición de lodos la $\Sigma 13$ HAPs presentó un rango total de 67.0 a 95.2 $\mu\text{g/g}$ de con predominio de HAPs de 4 anillos con el 41.5% y en menor concentración los de 6 anillos con el 6.2%; (Tarafdar y Sinha, 2018). En referencia a la contaminación por derrames de petróleo y la contaminación ambiental con HAPs en Tailandia tras el derrame del año 2013 en el golfo, se realizó análisis de suelo con niveles de HAPs de 30.4 ± 70.5 ng/g, comparados con un valor de 37.4 ± 2.8 ng/g para las zonas de contaminación por otras fuentes (Pongpiachan *et al.*, 2018).

Modelos estadísticos han sido diseñados con el fin de identificar la fuente de los diferentes hidrocarburos de acuerdo a sus relaciones entre ellos y definir su posible fuente. Han sido evaluados en matrices como el aire, suelo y sedimentos y asociadas a la caracterización de las emisiones de contaminantes específicos en determinadas áreas; el cálculo de esas relaciones en las concentraciones de los congéneres de los HAPs se denominan ratios diagnósticos (DR) que pueden ser utilizadas para la identificar las posibles fuentes de éstos HAPs (Finardi *et al.*,

2017), estas relaciones se hacen entre pares de HAPs generalmente con el mismo peso molecular y no tienen unidades, su principio se basa en el supuesto que las fuentes emisoras de HAPs siempre liberan estos compuestos en las mismas proporciones, se soporta también en el principio que HAPs con el mismo peso molecular tendrán el mismo destino en el medio ambiente y su concentración será constante durante toda su vida útil (Katsoyiannis y Breivik, 2014); sin embargo, a diferencia de éste concepto existen otros investigadores que concluyen que éste modelo es sencillo, considerándola una herramienta limitada que debe ser complementada con otros modelos que permitan contar con información adicional para aproximarse y poder diferenciar si la fuente es pirogénica, petrogénica, proveniente de diferentes fuentes como la combustión de pasturas, carbón o madera o de emisiones vehiculares, o que sean utilizadas para la confirmación de resultados de fuentes conocidas (Tobiszewski y Namieśnik, 2012).

A pesar de la controversia estas relaciones se han aplicado para la evaluación de resultados en aire, suelo, sedimentos o lodos y en menor medida aplicados a otras matrices como la leche bovina. A continuación, en la tabla 1, se presentan algunos estudios donde se reporta el uso de éstas relaciones de diagnóstico de HAPs utilizadas para la determinación cualitativa de las fuentes de HAPs.

Tabla 1. Diagnóstico de ratios (DR) utilizados según matriz.

Relación	Petrogénico	Pirogénico	Combustión gasolina	Combustión de hierba, carbón, madera	Muestras	Referencia
ANT/ANT+PHE	< 0.1	> 0.1				
BaA/BaA+CHR	< 0.2	> 0.35			Sedimento	(Yunker <i>et al.</i> , 2002)
FLA/FLA+PYR	< 0.4	> 0.4				
IP/IP+Bgp	< 0.2	> 0.2				
ANT/ANT+PHE	< 0.1	> 0.15			Aire	(Katsoyiannis y Breivik, 2014)
BaA/BaA+CHR	< 0.2	> 0.35				
FLA/FLA+PYR	< 0.4	> 0.4				
FLA/FLA+PYR			> 0.3			
PHE/PHE+ANT				> 0.1		
ANT/ANT+PHE			> 0.6		Leche bovina	(Gutiérrez <i>et al.</i> , 2015)
IcdP/IcdP+Bgp			> 0.1			
BaA/BaA+CHR				> 0.6		
ANT/ANT+PHE	< 0.1	> 0.1				
BaA/BaA+CHR	< 0.2	> 0.35			Compostaje	(Brändli <i>et al.</i> , 2007)
FLA/FLA+PYR	< 0.4	> 0.4	> 0.4 y < 0.5	> 0.5		
IP/IP+Bgp	< 0.2	> 0.2	> 0.2 y < 0.5	> 0.5		
ANT/ANT+PHE	< 0.1	> 0.1				
BaA/BaA+CHR	< 0.2	> 0.35			Muestras de suelo de uso agrícola	(Plachá <i>et al.</i> , 2009)
FLA/FLA+PYR	< 0.4	> 0.4	> 0.4 y < 0.5	> 0.5		
IP/IP+Bgp	< 0.2	> 0.2				

ANT=Antraceno, PHE=Fenantreno, BaA=Benzo (a) Antraceno, FLA=Fluoranteno, PYR= Pireno, FL=Fluoreno, IcdP= Indeno (1,2,3-cd) Pireno, Bgp=Benzo (g,h,i) Perileno

METABOLISMO DE LOS HAPs

Los HAPs son compuestos clasificados como contaminantes orgánicos persistentes (COPs), con propiedades lipofílicas y permanencia en el medio ambiente; en humanos son excretados por diferentes fluidos corporales incluyendo la leche materna y siendo una fuente para los lactantes, representando un riesgo para ellos a nivel reproductivo y de su desarrollo (Çok *et al.*, 2012).

En relación con los HAPs presentes en el medio ambiente, al reaccionar con NO₂ forman compuestos mutagénicos directos (Claxton, 2014), otros reaccionan con el oxígeno siendo genotóxicos por causar daño en el ADN, lo cual se basa en la producción de sustancias reactivas del oxígeno (ROS), que provocan estrés oxidativo y puede llevar a la peroxidación de los lípidos, proteínas, modificación y daño del ADN, indicadores de esto son el malondialdehído (MDA) y 8-hidroxi-2 deoxiguanosina (8-OHdG), pero cuya finalidad es que sean metabolizados rápidamente y excretados por la orina (Al-Saleh *et al.*, 2013). En rumiantes son metabolizados en el organismo y de acuerdo a sus propiedades físicas y químicas son excretados, además de la orina, por la bilis, las heces y la leche, considerando como productos de eliminación sus metabolitos hidroxilados (Lapole *et al.*, 2007). En cuanto al mecanismo como llegan los HAPs a la leche puede estar asociado a las propiedades físico químicas y específicamente al peso molecular y su propiedad lipofílica que le otorga a los HAPs su capacidad de transporte a través del epitelio mamario que fue atravesado por el fenantreno y el pireno mas no por el benzo (a) pireno (Cavret *et al.*, 2005).

Así, los HAPs son sustancias lipofílicas que requieren ser convertidos a compuestos más polares para poder ser excretados del organismo, esto forma parte del proceso de biotransformación donde se convierten en una serie de metabolitos reactivos entre los que se encuentran los epóxidos los cuales pueden tener potencial carcinogénico dado por la activación enzimática. Los HAPs son absorbidos en el organismo y al ser identificados por el receptor de arilos de hidrocarburos (AhR), desencadenando las reacciones donde participa el complejo de enzimas metabolizantes como la aldo-cetona reductasa, la citocromo P450 (CYP 450), catecol-o-metil-transferasa (reacciones fase I), OH-peroxidasa, glutathion transferasa (GST), acetil-transferasa, sulfotransferasas (SULT) (reacciones de fase II) que buscan hacer el compuesto más electrófilo y aumentar su reactividad, éstas enzimas catalizadoras producen reacciones que pueden ser de oxidación microsomal como reducción o hidrólisis (oxidación, hidroxilación aromática, hidroxilación heterocíclica, N-Dealquilación, desulfuración, N-

hidroxilación) y no microsomal (oxidación aminas, alcoholes, aldehídos, purinas y reacciones de reducción), el producto de éstas reacciones da como resultado fenoles, dihidrodioles del fenol, quinonas, trans-dihidrodioles y HAPs como metabolitos con estructuras similares. En la fase II los productos de la fase I sufren reacciones conjugadas con compuestos como sulfatos, glucurónidos, azúcares o complejos proteínicos y metabolitos hidroxilados. Estos cambios en la estructura química de los HAPs pueden generar uniones mediante enlaces covalentes a sitios nucleófilos de DNA y metabolitos como aductos y formar posibles isómeros que mediante activación metabólica producen derivados tóxicos con acción carcinogénica, mutagénica o genotóxica para los organismos vivos (Boehm, 2005; Höner, 2001; Ounnas *et al.*, 2009), generalmente relacionados con una bioactivación a nivel del hígado y tejidos hepáticos que causan la toxicidad e interfieren incluso con la función del órgano blanco (Walker *et al.*, 2006) y en el caso de rumiantes se ha evaluado la ruta para las reacciones de fase II, donde la acción de las enzimas epóxido hidrolasa indican mayor actividad (Sivapathasundaram *et al.*, 2003) siendo el hígado en los mamíferos el principal órgano de biotransformación para el caso del benzo (a) pireno aportante de metabolitos a través de la circulación extra hepática que llegan al testículo y los ovarios que determinan o afectan su funcionamiento (Ramesh *et al.*, 2012).

La propiedad lipofílica de los HAPs, hace que puedan permanecer en sitios de almacenamiento o depósitos de grasa y lípidos tisulares a nivel de los animales de granja en la grasa subcutánea del lomo, las costillas, la cabeza, la cola, la pechuga, los flancos, a nivel de ovarios, componentes lipídicos de las gónadas y en la glándula mamaria, así ante una exposición continua y permanente a los HAPs más lipofílicos y de mayor peso molecular pueden bioacumularse en éstos tejidos ricos en lípidos o depósitos de lípidos. Ya en el organismo no son fácilmente disponibles para su metabolismo y pueden ser liberados al torrente sanguíneo asociados a lipoproteínas y ser incorporados a tejidos donde pueden causar lesiones celulares que culminan en la disfunción del órgano. Otras condiciones que determinen la movilización de grasas y su catabolismo como la

desnutrición, el envejecimiento, la gestación y la lactancia por ejemplo, pueden producir la liberación de los HAPs al torrente sanguíneo y evitar su biotransformación hepática (Ramesh *et al.*, 2012).

A través del conocimiento de las posibles transformaciones de los HAPs se habla de los biomarcadores con los que se busca determinar una parte química del metabolito en diferentes fluidos corporales (sangre, leche u orina) o expirado al aire (Boehm, 2005). Un biomarcador puede ser el producto de procesos biológicos normales, procesos patológicos o respuestas a una intervención metabólica, así por ejemplo, el 1-hidroxipireno urinario es un metabolito específico del pireno. Estas moléculas se clasifican como biomarcadores de exposición, de efecto y de susceptibilidad, en humanos han sido utilizados para evaluar los riesgos laborales ante la exposición a diferentes contaminantes ambientales (Ifegwu y Anyakora, 2015), asociado a su importancia para evaluar la relación directa de la exposición y el riesgo de enfermedad (Schulte y Hauser, 2012).

Los HAPs al estar presentes en el medio ambiente pueden ser depositados en los estomas de las plantas y de manera directa ser ingeridos por los animales, generando metabolitos hidroxilados que son eliminados también por las heces. Es así como un estudio realizado en la provincia de Pontevedra, España en estiércol de diferentes especies animales (vacas, cerdos y conejos), reportaron la presencia de benzo (b) fluoranteno, benzo (k) fluoranteno y benzo (a) pireno en todas las muestras analizadas, al igual que el metabolito 3-OH-benzo (a) pireno libre y conjugado en vacas, caballos y cerdos tras la hidrólisis enzimática con β -glucuronidasa/arilsulfatasa. Los niveles más altos se encontraron en el estiércol de vacas y caballos, explicado por el manejo de pastoreo diario en potreros, a diferencia de los cerdos y conejos cuya alimentación se basa en concentrados y se encuentran en recinto cerrado. Con relación al benzo (a) pireno, los niveles mayores se encontraron en el estiércol de las vacas comparado con el de los caballos probablemente asociado a la capacidad del equino de metabolizar este compuesto por los componentes de su microflora intestinal que coincide con los

mayores valores para el 3-OH-benzo (a) pireno tanto libre como conjugado (Rey-Salgueiro *et al.*, 2008).

Pocos estudios reportan la evaluación de los HAPs en rumiantes producto de la ingestión de pasturas contaminadas, algunos mencionan la capacidad de la planta de absorber y adsorber los HAPs que quedarán depositados en su interior y cutículas como en la superficie de las hojas que pueden volverse bioaccesibles por los rumiantes y ser transferidos como consecuencia a la leche, pero que aún no resuelven el posible papel de la actividad microbiana del rumen en la biotransformación de los HAPs, es por eso una gran pregunta a resolver con relación a la presencia de las bacterias ruminales, de las que se desconoce su acción sobre los enlaces entre los contaminantes y su matriz (pasto, suplementos, agua, y la misma leche para el caso de los lactantes).

En referencia a lo anterior y con el fin de explorar en qué medida estos contaminantes se liberan de las pasturas en el rumen tras su fermentación, al igual que su disponibilidad para la digestión y/o absorción, se evaluaron tres HAPs: fenantreno, pireno y benzo (a) pireno mediante la técnica de degradación ruminal utilizando bolsas de nylon en bovinos fistulados. Se encontró que al colocar pastura seca previamente contaminada por aspersión con éstos tres contaminantes químicos, la tasa de desaparición de los tres compuestos es alta siendo mayor al 70% durante la primera hora y más del 80% a las 48 horas, el más rápido en desaparecer fue el fenantreno, situación que se explica por las características menos hidrofóbicas de los otros dos compuestos (Costera *et al.*, 2010), lo que puede determinar igualmente la distribución de HAPs en los diferentes compartimientos biológicos de los rumiantes.

Cada uno de los HAPs tienen vías de biotransformación diferentes en cada organismo y para el caso de los rumiantes el fluoranteno presenta tasas metabólicas mayores en el hígado que en el intestino, dando como resultado diferentes metabolitos dentro de los cuales están el 2,3-diol fluoranteno, trans 2-3

OH-1 fluoranteno, 1,10 b-epoxi-1,2,3,tetrahidro fluoranteno, 3-OH y 8-OH fluoranteno, siendo el 3-OH fluoranteno el producto de la desintoxicación del fluoranteno en mayor porcentaje para los grandes mamíferos. Los hidróxidos no son mutagénicos en su forma normal pero al oxidarse a su potencial homólogo de diol-mutagénicos mediados por las enzimas epóxido hidrolasas relacionadas con las CYP, producen dicho efecto mutagénico (Walker *et al.*, 2006)

Con el fin de evaluar las posibles rutas metabólicas de HAPs en pequeños rumiantes, se evaluó el efecto de la administración oral a cabras de una mezcla de HAPs disueltos en aceite mineral, demostrando que la leche, la orina y las heces son las rutas de eliminación de los compuestos evaluados. El fenantreno, pireno y benzo (a) pireno presentaron los menores niveles en leche (1.6, 1.9 y 0.2 %, respectivamente), en cuanto a la orina, el fenantreno reporta el mayor nivel, siendo de 40.4%; en contraste con las heces donde la concentración de benzo (a) pireno fue de 88.2%, revelando que los pequeños rumiantes y probablemente los poligástricos en general tienen una alta capacidad de metabolizar estos compuestos (Grova *et al.*, 2002). En referencia a las tasas de transferencia del pireno como 1-OH-Pireno se reporta que la concentración en orina es 10 veces mayor que en la leche, confirmando que una de las principales vías de eliminación de éstos compuestos se presenta en esa matriz, aunque al sumar las tasas de transferencia de éstos dos compartimentos no superan el 15% (Chahin *et al.*, 2008), esto también se reporta para el 3-OH-fenantreno, sugiriendo que la principal vía de eliminación del pireno es a través de las heces y la bilis (Lapole *et al.*, 2007).

Para el fenantreno se han identificado los metabolitos 1, 2, 3, 4 y 9-OH-fenantreno, los cuales han sido propuestos como biomarcadores de exposición y a pesar que se conoce que las principales vías de eliminación de los metabolitos hidroxilados son los fluidos corporales, se afirma que para el caso de los mamíferos la transferencia a la leche es de importancia y por lo tanto su determinación en leche

de vaca y humana se asocian con la contaminación ambiental y factores individuales de cada organismo (Martín Tornero *et al.*, 2018) (Tabla 2).

Tabla 2. HAPs y sus metabolitos en diferentes matrices (orina, leche y heces) en rumiantes.

Especie	Matriz	HAP	Niveles /Tasa de transferencia	Metabolito	Niveles /Tasa de transferencia	Referencia
Cabras	Orina	Fenantreno	27.7 ppb	2-OH-Fenantreno y 3-OH-Fenantreno	8624.3 ppb	(Grova <i>et al.</i> , 2005)
Cabras	Leche	Fenantreno	17.5 ppb	3-OH-Fenantreno	154.7 ppb	
Cabras	Orina	Pireno		1-OH-Pireno		(Guiavarc'h <i>et al.</i> , 2010)
Cabras	Leche	Fenantreno	0.014 %	3-OH-Fenantreno	0.073 %	(Lapole <i>et al.</i> , 2007)
	Orina	Fenantreno	0.03 %	3-OH-Fenantreno	0.24 %	
Cabras	Leche	Pireno	0.006 %	1-OH-Pireno	0.44 %	
	Orina	Pireno	0.02 %	1-OH-Pireno	1.175 %	
Cabras	Leche	Benzo (a) Pireno	0.002 %	3-OH-Benzo (a) Pireno	0.001 %	(Grova <i>et al.</i> , 2002)
Cabras	Orina	Benzo (a) Pireno	0.005 %	3-OH-Benzo (a) Pireno	0.00 %	
Cabras	Leche	Fenantreno	1.5 %			
Cabras	Orina	Fenantreno	40.4 %			
Cabras	Heces	Fenantreno	21.7 %			
Cabras	Leche	Pireno	1.9 %			
Cabras	Orina	Pireno	11.4 %			
Cabras	Heces	Pireno	25.57 %			
Cabras	Leche	Benzo (a)pireno	0.2 %			
Cabras	Orina	Benzo (a)pireno	6.3 %			
Cabras	Heces	Benzo (a)pireno	88.2 %			
Cabras	Orina			3-OH-Fenantreno	5%	(Ounnas <i>et al.</i> , 2009)
Cabras	Orina			1-OH-Pireno	30%	
Cabras	Leche			1-OH-Pireno	1%	

EFFECTOS EN ANIMALES Y EL HOMBRE

En animales se reporta que los HAPs pueden producir variados efectos toxicológicos tales como efectos hematológicos, toxicidad a nivel reproductivo e inmunológico, pero el efecto más crítico es su potencial carcinogénico y genotóxico ocasionado por bajas dosis de HAPs de alto peso molecular que concuerda con los de más de 4 anillos (EFSA, 2008). Algunos estudios reportan el efecto de los HAPs sobre características como la tasa de crecimiento, el diámetro

de la circunferencia de pecho y otras características del crecimiento infantil, que a pesar de lo encontrado no son absolutos según lo explicado por los autores, debido a la presencia de otros contaminantes en el ambiente y en el organismo de los niños como el cadmio, cromo, bromodifeniléteres (PBDE) y bifenilos policlorados (PCB), además del factor demográfico (Xu *et al.*, 2015), igualmente se ha reportado efecto de xenobióticos a nivel de las células sanguíneas causando aumento en los recuentos de plaquetas y glóbulos blancos en ratones machos (Merhi *et al.*, 2010) y a nivel de laboratorio aumento en los niveles de citoquinas producidas por células de pulmón por acción de material particulado PM_{2.5} con presencia de HAPs directamente proporcional con la concentración (Sun *et al.*, 2018). En cuanto al efecto durante el desarrollo embrionario, en ratas se reporta el efecto del benzo (a) pireno en la apoptosis debido posiblemente al estrés oxidativo, y defectos en la formación del tubo neuronal (Al-Saleh *et al.*, 2013). Cada HAP puede tener uno o más efectos en humanos, información que se muestra en la tabla 3 (Mastandrea *et al.*, 2005).

Tabla 3. Efecto genotóxicos de algunos HAPs en el ser humano

HAP	Carcinogenicidad	Genotoxicidad	Mutagenicidad
Benzo (a) Antraceno	S	S	+
Benzo (a) Pireno	S	S	+
Dibenzo (a) Antraceno	S	S	+
Dibenzo Pirenos	S	I	+
Antraceno	N	N	-
Pireno	N	L	+
Fenantreno	I	L	+
Benzo (e) Pireno	I	L	+
Benzo Fluorenos	I	I	?
Benzo (g,h,i) Perileno	I	I	+

S: Suficiente; N=No carcinogénico; L=Limitados; I=Insuficiente; Mutagenicidad (Test de Ames); +=Positivo; -=Negativo; ?=Inconcluso

El Comité Científico de la Alimentación (SCF) de la Autoridad de Seguridad Alimentaria Europea (EFSA) concluyó que los siguientes 15 HAPs benzo (a) antraceno, benzo (b) fluoranteno, benzo(j)fluoranteno, Benzo(k) fluoranteno, benzo (g,h,i) perileno, benzo (a) pireno, criseno, ciclopenta (c,d) pireno, dibenzo (a, h) antraceno, dienzo (a,e) pireno, dibenzo (a,h) pireno, dibenzo (a,i) pireno, dibenzo (a,l) pireno, indeno (1, 2, 3-cd) pireno y 5-metilcriseno han mostrado ser mutagénicos y genotóxicos y el benzo (g, h, i) perileno ha mostrado efectos carcinogénicos en animales de experimentación. Por tanto, pueden considerarse potencialmente genotóxicos y carcinogénicos para seres humanos; también se han sugerido como biomarcadores de exposición a esta fuente el benzo (a) pireno por estar asociado a efectos cancerígenos con origen en los alimentos (EFSA, 2008).

De igual manera, al evaluar los riesgos existen dos clasificaciones, una por parte de la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC) dada por la probabilidad que un contaminante sea cancerígeno para el humano así: en el grupo 1 están los agentes carcinogénicos para humanos, el grupo 2A los compuestos probablemente carcinogénicos para humanos, el grupo 2B con insuficiente evidencia, grupo 3 aquellos no clasificables y grupo 4 los probablemente no carcinogénicos. En la tabla 4 se muestran algunos de los HAPs y su clasificación (IARC, 2010). En cuanto a la clasificación de la EPA, ésta organización ha clasificado 16 HAPs según su carcinogenicidad y mutagenicidad, perteneciendo al grupo de HAPs en la categoría de probable carcinogénico en humanos el benzo (a) antraceno, benzo (a) pireno, benzo (b) fluoranteno, benzo (k) fluoranteno, criseno, dibenzo (a,h) antraceno y el indeno (1,2,3-cd) pireno estando los restantes 9 en el grupo de no clasificables y no descritos(EPA, 1999)

Tabla 4. Clasificación de los HAPs según su nivel de carcinogenicidad

Nombre del Hidrocarburo Policíclicos aromáticos HAP	Clasificación según IARC	Clasificación según EPA
Benzo (a) pireno	1	B2
Ciclo penta (c,d) Pireno	2A	
Dibenzo (a,h) antraceno	2A	B2
Dibenzo (a,l) Pireno	2A	
Benzo (a) antraceno	2 B	B2
Benzo (b) Fluoranteno	2 B	B2
Benzo (j) Fluoranteno	2 B	
Benzo (k) Fluoranteno	2 B	B2
Criseno	2 B	B2
5-Metilcriseno	2 B	
Dibenzo (a,h) Pireno	2 B	
Dibenzo (a,i) Pireno	2 B	
Indeno (1,2,3-c,d) Pireno	2 B	B2
Naftaleno	2 B	Nd
Antraceno	3	D
Benzo (g, h, i)	3	D
Dibenzo (a,e)	3	
Fenantreno	3	D
Fluoranteno	3	D
Fluoreno	3	D
Pireno	3	D

1: Carcinogénico para humanos, 2 A: Probables agentes carcinogénicos para humanos, 2B: Posible agente carcinogénico para humanos, 3: No clasificable e base a su Carcinogenicidad en humanos Nd: No descrito, D=No clasificable como carcinógeno humano, B2: Probable carcinógeno humano.

Una de las fuentes para el ser humano que aporta HAPs son los alimentos, estudios realizados en China, donde se determinaron los niveles de HAPs en diferentes dietas demostraron niveles levemente mayores en alimentos crudos para algunos HAPs y para el benzo (a) pireno los mayores niveles se dieron en los alimentos sometidos a cocción en presencia de aceites (Nie *et al.*, 2014), pero que

contrastan con estudios realizados en alimentos, donde a mayor contenido de grasa son mayores los niveles de HAPs (Qin *et al.*, 2011).

Otra fuente importante de HAPs para destacar en humanos es la presencia de una serie de contaminantes químicos presentes en productos cosméticos (perfumes, cremas de afeitar, lociones corporales, champú, jabones, cremas para el cabello) de origen sintético que asociado a la propiedad lipofílica de los HAPs determinan, como lo reporta Moon *et al.*, en 2012, la presencia de estos en la totalidad de las muestras de tejido adiposo de mujeres analizado, cuyos niveles van desde 15 a 361 ng/g de tejido graso y estando presentes en un 90% los HAPs de mayor peso molecular (5 y 6 anillos) (Moon *et al.*, 2012).

En humanos la leche materna es considerada una ruta de excreción de los HAPs, se menciona que una de las vías de exposición a estos compuestos es la aerógena y de manera importante la inhalación reportándose mayores niveles de HAPs en las leches de mujeres fumadoras y que habitan en áreas urbanas (Zanieri *et al.*, 2007).

Así mismo, se ha sugerido el paso de HAPs a través de la placenta y su posible afectación al feto reflejada en la disminución de la circunferencia de la cabeza y su asociación con el coeficiente de inteligencia, función cognitiva y el rendimiento escolar. Comparando los niveles de HAPs en la madre, en la placenta y en el feto, se encontró menores niveles en el feto (Al-Saleh *et al.*, 2013) lo que sugirió la alta actividad metabólica de compuestos tóxicos o xenobióticos de biotransformación de los HAPs en la placenta para disminuir la acumulación celular y la transferencia a este (Zhang *et al.*, 2017); sin embargo no hay que dejar de lado el efecto citotóxico demostrado del fenantreno y el 9, 10 fenantreno quinona en una línea celular de placenta humana (Peters *et al.*, 2007). Otros efectos incluyen bajos pesos al nacimiento y cáncer, que se asumen pueden estar asociados a factores como tiempos de exposición, tipos de HAPs presentes, vías de ingreso y origen de los mismos (Claxton, 2014)

Estudios realizados en linfocitos de humanos, reportan el efecto genotóxico al observar la ruptura del ADN evidenciado como efecto cometa por cambio en la forma de la célula, esto se atribuyó a los HAPs (benzo (a) pireno, benzo (a) antraceno, benzo (b) fluoranteno, benzo (k) fluoranteno, indeno (1,2,3-cd)pireno y dibenzo (a,h) antraceno encontrados en el material particulado (PM_{2,5}) muestreado (Quijano Parra y Meléndez Gélvez, 2014). En cultivos celulares HepG2, aplicando la prueba de micronúcleos a través de citometría de flujo (MN) – ensayo CAFLUX y ensayo de fluorescencia nuclear para evaluar la genotoxicidad y citotoxicidad de cuatro HAPs benzo (a) pireno, naftaleno, fenantreno y pireno solos o en mezclas con los metales arsénico, cadmio y plomo se reporta la activación del AhR para el caso del benzo(a) pireno y mayores efectos cuando se presentan diferentes mezclas (Muthusamy *et al.*, 2018).

El efecto carcinogénico de los HAPs se ha explicado por la capacidad de sus metabolitos, para el caso del benzo (a) pireno, que es uno de los compuestos más estudiados, se reporta que inhibe la apoptosis de las células siendo uno de los mecanismos en la presentación de esta enfermedad (Teranishi *et al.*, 2010). En animales experimentales se reporta que dietas ricas en grasas saturadas o insaturadas pueden acelerar la biotransformación del benzo(a) pireno y desarrollar tumores de colon (Diggs *et al.*, 2013). Por otra parte, la presencia de estos HAPs en la atmósfera y su asociación con la acción de los rayos ultravioleta ha conllevado a que el benzo (a) pireno sea clasificado como posible carcinógeno y es utilizado como biomarcador de riesgo de cáncer de pulmón por ser la vía aerógena una de las principales vías de exposición. (Kim *et al.*, 2013). En organismos acuáticos se han encontrado evidencias de efectos genotóxicos por exposición a HAPs, específicamente en peces expuestos a fenantreno (Corredor-Santamaría *et al.*, 2011)

Además de los estudios realizados en animales experimentales y células *in vitro* a nivel de laboratorio, actualmente también se cuenta con modelos de simulación que, tomando los resultados de estudios de campo de determinación de niveles de

HAPs, se determina el riesgo de cáncer y el cociente de peligro a la exposición directa. En un estudio realizado en una región de China evaluando la suma de siete HAPs (benzo (a) antraceno, criseno, benzo (a) pireno, benzo (k) fluoranteno, benzo (b) fluoranteno, dibenzo (a) antraceno, indeno (1,2,3-c,d) pireno) considerados carcinogénicos por ingestión, contacto, inhalación en suelos de zonas cercanas a pozos petroleros, se concluyó que a medida que pasa el tiempo de explotación en un punto los niveles de HAPs presentan un aumento que se asocia con el aumento del riesgo de cáncer en la población siendo una amenaza para la salud de la población cercana a estos lugares (Fu *et al.*, 2018).

TÉCNICAS PARA DETERMINACIÓN DE HAPs EN LECHE

Los métodos utilizados para la detección de contaminantes químicos en leche buscan detectar la presencia de estos en pequeñas cantidades. Diferentes trabajos de investigación comparan procedimientos para evaluar o estandarizar técnicas que se conviertan en herramientas epidemiológicas y toxicológicas rápidas, seguras y confiables, además de generar menos impactos negativos en el medio ambiente. Gran parte de los estudios realizados para determinar HAPs en leche han sido orientados a determinar las concentraciones en leches destinadas al consumo humano; desde fórmulas infantiles para reconstituir, así como leches líquidas y en menor porcentaje leches crudas, siendo los tamaños de las muestras bajos atribuidos a altos costos de las técnicas de cuantificación (Tabla 2).

Ha sido de interés por las características de los HAPs, evaluar diferentes técnicas que permitan su determinación tanto en el aire, suelo, agua y alimentos, como por ejemplo la leche, y su importancia como contaminantes y que representan riesgo para la salud humana (Çok *et al.*, 2012). Los diferentes avances en las metodologías para la determinación de HAPs se enfrentan al reto de alcanzar los mayores índices de recuperación de estos analitos en cada una de las matrices evaluadas (Wenzl *et al.*, 2006). La cromatografía de gases (GC) y líquida de alta precisión (HPLC) han sido unas de las técnicas que mejores resultados han

arrojado, principalmente por alcanzar un rango de detección menor al reportado por otras técnicas, además aumentan su sensibilidad cuando se asocian a técnicas de cuantificación como la espectrometría de masas o la fluorescencia directa.

Análisis de muestras de leche comerciales, fórmulas infantiles en polvo reconstituidas y muestras de leche materna tomada en el inicio de la lactancia y al mes, demostraron niveles de fenantreno ($0,27 \pm 0,09$ $\mu\text{g/kg}$ de leche) y benzo (b) fluoranteno ($0,35 \pm 0,20$ $\mu\text{g/kg}$ de leche), siendo los HAPs con mayores concentraciones en leches comerciales ($2,01 \pm 0,30$ $\mu\text{g/kg}$ de leche). La determinación se realizó utilizando el método de HPLC con fluorescencia, la variación en leches comerciales se atribuyó a las diferentes condiciones de manejo durante la crianza de los bovinos y el procesamiento. Así mismo, se observó una correlación entre la concentración de triglicéridos y la mayor presencia de estos HAPs relacionada con su característica lipofílica sugiriendo esta técnica como una herramienta útil para la determinación de la contaminación por HAPs en leche humana (Kishikawa *et al.*, 2003).

Otro estudio realizado en España, evaluó la presencia de 16 HAPs en leches, mediante la técnica de cromatografía de gases asociada a la espectrometría de masas por el método de inmersión directa de extracción en fase sólida (SPME) siendo la técnica de elección, ya que permitió detectar la presencia del HAPs acenaftileno y acenaftaleno, compuestos que no son fluorescentes, los resultados revelaron presencia de fluoranteno y pireno en muestras de leche entera y niveles no detectados en leche descremadas (Aguinaga *et al.*, 2007). Al comparar esto con la técnica de cromatografía de gases y espectrometría utilizando una membrana de extracción de solvente para determinar 16 HAPs en muestras de leche entera, semidescremada y descremada, no se obtuvieron buenos resultados, probablemente en razón a que los niveles de extracción en presencia de grasa se ven afectados y los porcentajes de recuperación fueron inferiores al 25% (Rodil *et al.*, 2007).

Al evaluar dos métodos de extracción de HAPs en leche, como son el líquido (LLE) y la extracción en fase sólida (SPE), se reporta que dependiendo de los HAPs que se busca analizar, cualquiera de los dos métodos es aplicable; no obstante, para el caso del solvente, el mejor porcentaje de recuperación se obtuvo con la mezcla de diclorometano y n-hexano en LLE (4,1 v/v); sin embargo al utilizar el cloroformo en la extracción en fase sólida la eficiencia se encontró que fue mayor al 80% (Chung *et al.*, 2010).

A pesar que los metabolitos hidroxilados son productos de la biotransformación de los HAPs, las técnicas para su determinación aún no son concluyentes, en razón a la inestabilidad química, atribuida a las reacciones de oxidación que pueden determinar su pérdida de las formas conjugadas y no conjugadas relevantes en fluidos como la orina (Woudneh *et al.*, 2016).

Tabla 2. Métodos para la determinación de Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos en Leche

Técnica determinación	Método Extracción	HAPs detectados	Matriz analizada	Valores totales encontrados \sum HAPs Límites de detección	Porcentajes de recuperación HAPs	No muestras analizadas	Referencia
HPLC asociada a fluorescencia	Líquido –líquido	Fenantreno 0.27±0.09. Antraceno 0.01±0.01. Fluoranteno 0.14±0.07 Pireno 0.11±0.07. Benzo (a) Antraceno 0.02±0.02. Criseno 0.10±0.07. Benzo (b) Fluoranteno 0.35±0.20. Benzo (k) Fluoranteno 0.02±0.01. Benzo (a) Pireno 0.03±0.02. Dibenzo (a.h) Antraceno 0.02±0.01. Indeno (1.2.3-cd)Pireno 0.01±0.01 µg/kg de leche	Leche muestras comerciales	0.99 ± 0.37 µg/kg leche 0.23 -2.01 ng/kg	90 al 105	14	(Kishikawa <i>et al.</i> , 2003)
Cromatografía de gases acopado a Espectrometría de masas GC-MS	Inmersión directa - Micro extracción en fase sólida DI-SPME	Fluoranteno (1.04±0.18 y 0.83±0.02 µg/L) y Pireno (1.12±0.25 y 0.63±0.14 µg/L) en dos muestras de leche entera	Muestras comerciales de leche entera, semidescremada, descremada y fórmulas infantiles	0.07 – 2.25 ng/L	87, 6 al 112%	13	(Aguinaga <i>et al.</i> , 2007)
Cromatografía de gases y detección por espectrometría de masas.	Extracción en fase líquida, posterior a la saponificación de la muestra	Naftaleno (42-272) AcPy (n.d-7) AcP (58-140) Fluoreno (5-20) PA (21-69) Antraceno (n.d-12) Fluoranteno (n.d-6) Pireno (n.d-372). Benzo(a) Antraceno (n.d-13). Criseno (n.d-42). Benzo (b) Fluoranteno (n.d-11). Benzo (k) Fluoranteno (n.d-6). Benzo (a) Pireno (n.d-12). Dibenzo (a.h) Antraceno (n.d-16). Benzo (g.h.i) Perileno (n.d-1) µg/L de leche	Leche cruda bovina		80 al 120%	17	(Chung <i>et al.</i> , 2010)

Técnica determinación	Método Extracción	HAPs detectados	Matriz analizada	Valores totales encontrados \sum HAPs Límites de detección	Porcentajes de recuperación HAPs	No muestras analizadas	Referencia
Cromatografía de gases acopado a Espectrometría de masas GC-MS	Extracción fase sólida	Naftaleno (106-119) Fluoreno (12-16) PA (36-48) Fluoranteno (n.d-13) $\mu\text{g/L}$ de leche	Leche cruda bovina		80 al 120%	17	(Chung <i>et al.</i> , 2010)
HPLC- Detección por Fluorescencia	Extracción líquido-líquido y saponificación	AP (4.09). Fluoreno (3.42). Fenantreno (10.02). Antraceno (39.07) Fluoranteno (7.32) Pireno (24.50). Benzo(a) Antraceno (0.34). Criseno (0.84). Benzo (b) Fluoranteno (0.78). Benzo (k) Fluoranteno (6.33). Benzo (a) Pireno (0.81). Dibenzo (a.h) Antraceno (4.36). Benzo (g.h.i) Perileno (5.23) y Indeno(1.2.3-cd) Pireno (7.77) $\mu\text{g/kg}$ de leche	Leche materna	114.93 $\mu\text{g/kg}$ de leche		30	(Santonicola <i>et al.</i> , 2017)
Cromatografía de gases acopado a Espectrometría de masas GC-MS	Extracción fase sólida	24 Hidrocarburos policíclicos aromáticos (Se Detectaron 17 HAPs)	Leche materna	Valores de 0.71 a 378 ng/g de grasa con valor promedio de 31.8 ng/g de grasa	68 al 110%	321	(Pulkrabova <i>et al.</i> , 2016)
Cromatografía de gases acopado a Espectrometría de masas GC-MS	Extracción líquido-líquido	16 Hidrocarburos policíclicos aromáticos (En madres no fumadoras se detectaron 11 HAPs y fumadoras los 16 HAPs) Naftaleno 45.747 \pm 49.031 Acenaftileno 1.144 \pm 1.366 Acenaftaleno 1.428 \pm 2.163	Leche materna			32	(Zanieri <i>et al.</i> , 2007)
Alta Cromatografía de gases y alta Espectrometría de masas MS (HRGC-HRMS)	Extracción líquido-líquido	Fluoreno 2.837 \pm 2.608 Fenantreno 16.472 \pm 16.867 Antraceno 1.329 \pm 1.481 Fluoranteno 4.714 \pm 4.490 Pireno 5.812 \pm 4.963	Leche materna	84.417 ng/g de grasa		47	(Çok <i>et al.</i> , 2012)

Técnica determinación	Método Extracción	HAPs detectados	Matriz analizada	Valores totales encontrados \sum HAPs Límites de detección	Porcentajes de recuperación HAPs	No muestras analizadas	Referencia
Cromatografía de gases acopado a Espectrometría de masas GC-MS Cromatografía de gases acopado a Espectrometría de masas GC-MS	ISO 15302	Benzo (a) Antraceno 0.575±0.468 Cryseno 1.483±1.2720 Benzo (b) Fluoranteno 0.458±0.342 Benzo (k) Fluoranteno 0.209±0.148 Benzo (a) Pireno 0.01±0.03. Dibenzo (a.h) Benzo (a)pireno 0.247±0.182 Indeno(1.2.3-cd) Pireno 0.532±0.407 Benzo (g.h.i) Pireno 0.710±0.445 Dibenzo (a.h) Antraceno 0.096±0.079 ng/g de grasa	Leche cruda rural	0.25 ng/g leche		5	(Grova <i>et al.</i> , 2000)
		Naftaleno 8.9±3.9. Fenantreno 12.4±5.9. Antraceno 3.3±0.8 Fluoranteno 4.3±2.9. Pireno 7.7±4.9 ng/g de grasa					
	ISO 15302	Naftaleno 6.9±1.0. Fenantreno 9.5±2.3. Antraceno 3.7±2.0 Pireno 6.67±5.5 ng/g de grasa	Leche cruda urbana	0.25 ng HAP/g leche		5	(Grova <i>et al.</i> , 2000)
	Extracción en fase sólida SPE	Fenantreno 1.425±0.007. Antraceno 1.296±0.096. Pireno 1.351±0.223. Benzo (a) Antraceno 1.072±0.04. Benzo (a) Pireno 0.270±0.017. Benzo (g.h.i) Pireno 0.014±0.003. ng/g de leche	Leche cruda bovina	5.428 ng/g de leche		9	(Naccari <i>et al.</i> , 2011)
HPLC con detección por fluorescencia	Extracción en fase sólida SPE	Fenantreno 1.774±0.041. Antraceno 1.835±0.037. Pireno 1.301±0.233. Benzo (a) Antraceno 1.060±0.079. Criseno	Leche pasteurizada	6.519 ng/g de leche	90,12 a 93,78%	9	

Técnica determinación	Método Extracción	HAPs detectados	Matriz analizada	Valores totales encontrados \sum HAPs Límites de detección	Porcentajes de recuperación HAPs	No muestras analizadas	Referencia
HPLC con detección por fluorescencia	Extracción en fase sólida SPE	0.261±0.029. Benzo (a) Pireno 0.268±0.004. Benzo (g.h.i) Pireno 0.019±0.001. ng/g de leche Fenantreno 1.636±0.059. Antraceno 1.749±0.002. Pireno 1.591±0.056. Benzo (a) Antraceno 0.813±0.060. Criseno 0.104±0.019. Benzo (a) Pireno 0.035±0.002. Benzo (g.h.i) Pireno 0.013±0.001. ng/g de leche Fenantreno 1.831±0.073. Antraceno 2.473±0.083.	Leche semi descremada UHT	5.941 ng/g de leche	90,12 a 93,78%	9	
HPLC con detección por fluorescencia	Extracción en fase sólida SPE	Pireno 2.132±0.073. Benzo (a) Antraceno 0.830±0.094. Criseno 0.130±0.022. Benzo (k) Fluoranteno 0.067±0.008 Benzo (a) Pireno 0.248±0.021. Benzo (g.h.i) Pireno 0.039±0.007. ng/g de leche Acenaftileno 0.36±0.38 Acenaftaleno 0.31±0.24 Fenantreno 0.03±0.06. Antraceno 0.16±0.32. Fluoranteno 0.21±0.11 Pireno 0.01±0.01. Benzo (a) Antraceno 0.08±0.06. Criseno 0.01±0.01. Benzo (k) Fluoranteno 0.04±0.04 Benzo (a) Pireno 0.01±0.03. Dibenzo (a.h) Antraceno 0.02±0.02. µg/g de leche	Leche entera UHT	7.753 ng/g de leche	90,12 a 93,78%	9	
Cromatografía de gases/ Cuantificación con método estándar externo de HAPs	Extracción en fase sólida	Naftaleno 92.40 Acenaftileno <4.9 Acenaftaleno <0.3 Fluoreno 3.58	Leche cruda bovina	1.24±1.28 µg/g de leche Año 2010	50 al 95%	60	(Gutiérrez <i>et al.</i> , 2015)
Cromatografía líquida /detección UV y Fluorescencia	Extracción en fase sólida SPE		Leches comerciales	169.99 µg/g de leche	>78,6%	44	(García Londoño <i>et al.</i> , 2017)

Técnica determinación	Método Extracción	HAPs detectados	Matriz analizada	Valores totales encontrados \sum HAPs Límites de detección	Porcentajes de recuperación HAPs	No muestras analizadas	Referencia
		Fenantreno 57.92 Antraceno 0.51 Fluoranteno 5.51 Pireno 6.98 Benzo (a) Antraceno 0.31 Cryseno 2.22 Benzo (b) Fluoranteno 0.13 Benzo (k) Fluoranteno 0.06 Benzo (a) Pireno 0.13 Dibenzo (a,h) Antraceno 0.04 Indeno(1.2.3-cd) Pireno 0.09 Benzo (g,h,i) Perileno 0.07 µg/kg de leche					
HPLC- con detección por UV	Micro extracción Líquido-Líquido dispersiva	Benzo (a) Antraceno 0.11 Benzo (a) Pireno 0.43 ng/ml de leche	Leches comerciales enteras	-	91 al 104%	3	(Mahmoudpour <i>et al.</i> , 2016)
HPLC		\sum AN. BaA 0.16 µg/kg de leche 0.17 µg/kg de leche 0.12 µg/kg de leche 0.37 µg/kg de leche	Leche cruda bovina			50	Parra

NORMATIVIDAD EN COLOMBIA E INTERNACIONAL

Colombia participa desde su inicio en el acuerdo de medidas sanitarias y fitosanitarias en 1986 al iniciarse la Ronda de Uruguay. Posteriormente en el año 2006 emprende políticas como las contenidas en el CONPES 3376 que establece la política sanitaria y de inocuidad para las cadenas de la carne y de la leche y en el 2010 el CONPES 3676 de consolidación de la política sanitaria y de inocuidad para las cadenas láctea y cárnica, que integra instituciones del sector primario, como el Instituto Colombiano Agropecuario ICA y el Instituto Nacional de Vigilancia y Alimentos INVIMA, que desarrolla programas de Inspección Vigilancia y Control en la etapa de transformación o procesamiento de los alimentos. A nivel nacional se implementan programas integrados para el control y vigilancia de los residuos de medicamentos veterinarios y contaminantes químicos que puedan afectar la salud de los consumidores y así consolidar la política de inocuidad para las cadenas láctea y cárnica.

El decreto 616 de 2006, define los requisitos para cada uno de los eslabones de la cadena productiva desde el sector primario hasta la comercialización y la responsabilidad de cada una de la autoridades sanitarias para garantizar la inocuidad de la leche (MADR, 2006). En cuanto a los límites máximos de residuos en leche, el Ministerio de la Protección Social en el decreto 1880 de 2011 define que los niveles de las sustancias contaminantes químicas como metales pesados, residuos de medicamentos veterinarios y plaguicidas tendrán como referente el *Codex alimentarius* que establece los límites máximos de residuos (LMR) y los límites máximos para residuos extraños (LMRE) (MPS, 2011).

Sin embargo, a la fecha no existe en la normatividad sanitaria vigente para Colombia una norma que defina los niveles máximos de residuos para HAPs en la leche a excepción del agua para consumo humano donde se estableció un nivel de HAPs de 0,01 mg/L (MPS, 2007). A nivel internacional se han establecido para

algunos grupos de alimentos, basados en los valores de benzo (a) pireno, determinado como marcador de presencia y del efecto cancerígeno de un grupo de HAPs, siendo de 1 µg/kg en preparados para lactantes y preparados de continuación incluidas la leche para lactantes y la leche de continuación (tipo de leche para lactancia artificial que sustituye la leche materna o complementa la alimentación posterior a la finalización de la lactancia materna), y de 1 µg/kg para la Σ benzo (a)pireno, benzo (a) antraceno, benzo (b)fluoranteno, criseno en el mismo grupo de alimentos (EFSA, 2008; UE, 2011).

CONCLUSIONES

Diferentes contaminantes químicos pueden entrar en contacto con los animales al estar presentes en el medio ambiente y por su propiedad de transporte transfronterizo de largo alcance y deposición, permanecer en el medio ambiente y ser ingeridos, inhalados o absorbidos vía dérmica y mediante cualquiera de estas vías llegar al torrente sanguíneo y de allí a los productos que pueden ser ingeridos como la carne y la leche, al igual que los generados por la combustión. Es esta una de las primeras razones por las cuales evaluar su presencia en la leche y los valores que se puedan encontrar, además de establecer las técnicas más adecuadas para su determinación, en especial de los que presentan propiedades lipofílicas como son los plaguicidas y particularmente los hidrocarburos aromáticos policíclicos.

Desde luego que el objetivo de las investigaciones siempre busca esclarecer los mecanismos de acción y la respuesta de los organismos ante la presencia de éstos xenobióticos al igual que asociarlo con la biotransformación, donde es importante el papel de definir la matriz más acertada para su determinación, la técnica, la facilidad en la toma de la muestra, es por eso que varios estudios han evaluado si biomarcadores de exposición ya demostrados en excreciones como la orina pueden ser utilizados también en matrices como la leche por ser el producto

consumido de manera directa. En el contexto de la Orinoquia este tipo de estudios juega un papel importante considerando que la región ha venido incluyendo a su vocación agropecuaria otros sectores como la agroindustria, la industria de alimentos tanto para humanos como para los animales y del sector minero energético principalmente el petróleo, siendo factores predisponentes para exposición a HAPs.

BIBLIOGRAFIA

Aguinaga N., Campillo N., Viñas P., Hernández-Córdoba M. 2007. Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in milk and related products using solid-phase microextraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 596: 285-290.

Al-Saleh I., Alsabbahen A., Shinwari N., Billedo G., Mashhour A., Al-Sarraj Y., Mohamed G.E.D., Rabbah A. 2013. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) as determinants of various anthropometric measures of birth outcome. *Science of The Total Environment*. 444: 565-578.

Aydin Y.M., Kara M., Dumanoglu Y., Odabasi M., Elbir T. 2014. Source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in ambient air of an industrial region in Turkey. *Atmospheric Environment*. 97: 271-285.

Bianchi F., Careri M., Mangia A., Mattarozzi M., Musci M. 2008. Experimental design for the optimization of the extraction conditions of polycyclic aromatic hydrocarbons in milk with a novel diethoxydiphenylsilane solid-phase microextraction fiber. *Journal of Chromatography A*. 1196–1197: 41-45.

Boehm P.D.; 1964; 15 - Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs); Academic Press; Burlington; 313-337.

Boehm P.D.; 2005; 15 - Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs); Academic Press; Burlington; 313-337.

Bortey-Sam N., Ikenaka Y., Akoto O., Nakayama S.M.M., Marfo J., Saengtienchai A., Mizukawa H., Ishizuka M. 2016. Excretion of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites (OH-PAHs) in cattle urine in Ghana. *Environmental Pollution*. 218: 331-337.

Brändli R.C., Bucheli T.D., Kupper T., Mayer J., Stadelmann F.X., Tarradellas J. 2007. Fate of PCBs, PAHs and their source characteristic ratios during composting and digestion of source-separated organic waste in full-scale plants. *Environmental Pollution*. 148: 520-528.

Cavret S., Feidt C., Le Roux Y., Laurent F. 2005. Short Communication: Study of Mammary Epithelial Role in Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Transfer to Milk. *Journal of Dairy Science*. 88: 67-70.

Cetin B., Yurdakul S., Gungormus E., Ozturk F., Sofuoglu S.C. 2018. Source apportionment and carcinogenic risk assessment of passive air sampler-derived PAHs and PCBs in a heavily industrialized region. *Science of The Total Environment*. 633: 30-41.

Claxton L.D. 2014. The history, genotoxicity, and carcinogenicity of carbon-based fuels and their emissions. Part 2: Solid fuels. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. 762: 108-122.

Çok I., Mazmanci B., Mazmanci M.A., Turgut C., Henkelmann B., Schramm K.-W. 2012. Analysis of human milk to assess exposure to PAHs, PCBs and organochlorine pesticides in the vicinity Mediterranean city Mersin, Turkey. *Environment International*. 40: 63-69.

Costera A., Rycken G., Feidt C., Soligot C., Jurjanz S. 2010. Ruminal disappearance of PAHs in contaminated grass using the nylon bag technique. *Agronomy for Sustainable Development*. 30: 769-775.

Chahin A., Guivarc'h Y.P., Dziurla M.-A., Toussaint H., Feidt C., Rycken G. 2008. 1-Hydroxypyrene in milk and urine as a bioindicator of polycyclic aromatic hydrocarbon exposure of ruminants. *Journal of agricultural and food chemistry*. 56: 1780-1786.

Chung T.-L., Liao C.-J., Chen M.-F. 2010. Comparison of liquid-liquid extraction and solid-phase extraction for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in the milk of Taiwan. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 41: 178-183.

Diggs D.L., Myers J.N., Banks L.D., Niaz M.S., Hood D.B., Roberts Li L.J., Ramesh A. 2013. Influence of dietary fat type on benzo(a)pyrene [B(a)P] biotransformation in a B(a)P-induced mouse model of colon cancer. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 24: 2051-2063.

Duedahl-Olesen L.; 2013; 13 - Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in foods; Woodhead Publishing; 308-333.

EFSA. 2008. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food-Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *EFSA Journal*. 6: 724.

EPA U.S.E.P.A., 1999. Compendium of Methods for the Determination of Toxic Organic Compounds in Ambient Air. Cincinnati, 84 p.

Farhadian A., Jinap S., Abas F., Sakar Z.I. 2010. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meat. *Food Control*. 21: 606-610.

Finardi S., Radice P., Cecinato A., Gariazzo C., Gherardi M., Romagnoli P. 2017. Seasonal variation of PAHs concentration and source attribution through diagnostic ratios analysis. *Urban Climate*. 22: 19-34.

Fu X.-W., Li T.-Y., Ji L., Wang L.-L., Zheng L.-W., Wang J.-N., Zhang Q. 2018. Occurrence, sources and health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils around oil wells in the border regions between oil fields and suburbs. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 157: 276-284.

García Londoño V.A., Reynoso C.M., Resnik S. 2017. Polycyclic aromatic hydrocarbons in milk powders marketed in Uruguay. *Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance*. 10: 284-291.

Grova N., Feidt C., Laurent C., Rychen G. 2002. [14C] Milk, urine and faeces excretion kinetics in lactating goats after an oral administration of [14C]polycyclic aromatic hydrocarbons. *International Dairy Journal*. 12: 1025-1031.

Grova N., Laurent C., Feidt C., Rychen G., Laurent F., Lichtfouse E. 2000. Gas chromatography-mass spectrometry study of polycyclic aromatic hydrocarbons in grass and milk from urban and rural farms. *European Journal of Mass Spectrometry*. 6: 457-460.

Grova N., Monteau F., Le Bizec B., Feidt C., Andre F., Rychen G. 2005. Determination of phenanthrene and hydroxyphenanthrenes in various biological matrices at trace levels using gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of analytical toxicology*. 29: 175-181.

Guiavarc'h Y.P., Chahin A., Dziurla M.-A., Toussaint H., Feidt C., Rychen G. 2010. Evaluation of small dairy ruminant exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: A biomarker approach. *Small Ruminant Research*. 91: 141-152.

Gutiérrez R., Vega S., Ortiz R., Pérez J.J., Schettino B. 2015. Presence of PAHs in milk of industrial farms from Tizayuca, Hidalgo, Mexico. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*. 50: 317-321.

Höner A.; 2001; Chapter 4 Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) metabolites; Elsevier Science B.V.; 99-121.

Huzlik J., Bozek F., Pawelczyk A., Licbinsky R., Naplavova M., Pondelicek M. 2017. Identifying risk sources of air contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons. *Chemosphere*. 183: 139-146.

IARC, 2010. Some Nonheterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures. 1 p.

Ifegwu O.C., Anyakora C.; 2015; Chapter Six - Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Part I. Exposure; Elsevier; 277-304.

Kampire E., Kiremire B.T., Nyanzi S.A., Kishimba M. 2011. Organochlorine pesticide in fresh and pasteurized cow's milk from Kampala markets. *Chemosphere*. 84: 923-927.

Katsoyiannis A., Breivik K. 2014. Model-based evaluation of the use of polycyclic aromatic hydrocarbons molecular diagnostic ratios as a source identification tool. *Environmental Pollution*. 184: 488-494.

Kim K.-H., Jahan S.A., Kabir E., Brown R.J.C. 2013. A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. *Environment International*. 60: 71-80.

Kishikawa N., Wada M., Kuroda N., Akiyama S., Nakashima K. 2003. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in milk samples by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography B*. 789: 257-264.

Lapole D., Rychen G., Grova N., Monteau F., Le Bizec B., Feidt C. 2007. Milk and Urine Excretion of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Their Hydroxylated Metabolites After a Single Oral Administration in Ruminants. *Journal of Dairy Science*. 90: 2624-2629.

Lee J., Jeong J.-H., Park S., Lee K.-G. 2018. Monitoring and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in processed foods and their raw materials. *Food Control*. 92: 286-292.

MADR.2006, Decreto 616 de 2006. Por el cual se expide el Reglamento Técnico sobre los requisitos que debe cumplir la leche para el consumo humano que se obtenga, procese, envase, transporte, comercializa, expendo, importe o exporte en el país. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y Ministerio de la Protección Social. Bogotá-Colombia.

Mahmoudpour M., Mohtadinia J., Ansarin M., Nemati M. 2016. Dispersive liquid-liquid microextraction for HPLC-UV determination of PAHs in milk. *Journal of AOAC International*. 99: 527-533.

Martín Tornero E., Espinosa-Mansilla A., Muñoz de la Peña A., Durán Merás I. 2018. Phenanthrene metabolites determination in human breast and cow milk by combining elution time-emission fluorescence data with multiway calibration. *Talanta*. 188: 299-307.

Martorell I., Perelló G., Martí-Cid R., Castell V., Llobet J.M., Domingo J.L. 2010. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in foods and estimated PAH intake by the population of Catalonia, Spain: Temporal trend. *Environment International*. 36: 424-432.

Mastandrea C., Chichizola C., Ludueña B., Sánchez H., Álvarez H., Gutiérrez A. 2005. Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores biológicos. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*. 39: 27-36.

Merhi M., Demur C., Racaud-Sultan C., Bertrand J., Canlet C., Estrada F.B.Y., Gamet-Payrastre L. 2010. Gender-linked haematopoietic and metabolic disturbances induced by a pesticide mixture administered at low dose to mice. *Toxicology*. 267: 80-90.

Moon H.-B., Lee D.-H., Lee Y.S., Kannan K. 2012. Occurrence and accumulation patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons and synthetic musk compounds in adipose tissues of Korean females. *Chemosphere*. 86: 485-490.

MPS.2011, Decreto 1880 Por el cual se señalan los requisitos para la comercialización de leche cruda para consumo humano directo en el territorio nacional Bogotá-Colombia.

MPS M.2007, Por medio de la cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano.

Muthusamy S., Peng C., Ng J.C. 2018. Genotoxicity evaluation of multi-component mixtures of polyaromatic hydrocarbons (PAHs), arsenic, cadmium, and lead using flow cytometry based micronucleus test in HepG2 cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 827: 9-18.

Naccari C., Cristani M., Giofrè F., Ferrante M., Siracusa L., Trombetta D. 2011. PAHs concentration in heat-treated milk samples. *Food Research International*. 44: 716-724.

Nie J., Shi J., Duan X., Wang B., Huang N., Zhao X. 2014. Health risk assessment of dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in Taiyuan, China. *Journal of Environmental Sciences*. 26: 432-439.

Ounnas F., Jurjanz S., Dziurla M.A., Guiavarc'h Y., Feidt C., Rychen G. 2009. Relative bioavailability of soil-bound polycyclic aromatic hydrocarbons in goats. *Chemosphere*. 77: 115-122.

Peters Z.J., Nykamp J.A., Passaperuma K., Carlson J.C., DeWitte-Orr S.J., Greenberg B.M., Bols N.C. 2007. Effect of copper on the cytotoxicity of phenanthrene and 9,10-phenanthrenequinone to the human placental cell line, JEG-3. *Reproductive Toxicology*. 23: 513-520.

Plachá D., Raclavská H., Matýsek D., Rummeli M.H. 2009. The polycyclic aromatic hydrocarbon concentrations in soils in the Region of Valasske Mezirici, the Czech Republic. *Geochemical Transactions*. 10:

Pongpiachan S., Hattayanone M., Tipmanee D., Suttinun O., Khumsup C., Kittikoon I., Hirunyatrakul P. 2018. Chemical characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in 2013 Rayong oil spill-affected coastal areas of Thailand. *Environmental Pollution*. 233: 992-1002.

Pulkrabova J., Stupak M., Svarcova A., Rossner P., Rossnerova A., Ambroz A., Sram R., Hajslova J. 2016. Relationship between atmospheric pollution in the residential area and concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in human breast milk. *Science of The Total Environment*. 562: 640-647.

Purcaro G., Moret S., Conte L.S. 2013. Overview on polycyclic aromatic hydrocarbons: Occurrence, legislation and innovative determination in foods. *Talanta*. 105: 292-305.

Qin Y.Y., Leung C.K.M., Leung A.O.W., Zheng J.S., Wong M.H. 2011. Persistent organic pollutants in food items collected in Hong Kong. *Chemosphere*. 82: 1329-1336.

Quddus Khan M.A., Al-Ghais S.M., Catalin B., Khan Y.H.; 2005; Chapter 12 Effects of petroleum hydrocarbons on aquatic animals; Elsevier; 159-185.

Quijano Parra A., Meléndez Gélvez I. 2014. Identificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (haps) en el aire de Cúcuta-Colombia: Efecto gen tóxico. *Revista EIA*. 11:

Ramesh A., Archibong A.E., Huderson A.C., Diggs D.L., Myers J.N., Hood D.B., Rekhadevi P.V., Niaz M.S.; 2012; Chapter 63 - Polycyclic aromatic hydrocarbons; Academic Press; Boston; 797-809.

Ré-Poppi N., Santiago-Silva M. 2005. Polycyclic aromatic hydrocarbons and other selected organic compounds in ambient air of Campo Grande City, Brazil. *Atmospheric Environment*. 39: 2839-2850.

Rey-Salgueiro L., García-Falcón M.S., Martínez-Carballo E., González-Barreiro C., Simal-Gándara J. 2008. The use of manures for detection and quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons and 3-hydroxybenzo[a]pyrene in animal husbandry. *Science of The Total Environment*. 406: 279-286.

Rodil R., Schellin M., Popp P. 2007. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and beverages using membrane-assisted solvent extraction in combination with large volume injection–gas chromatography–mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*. 1163: 288-297.

Santonicola S., De Felice A., Cobellis L., Passariello N., Peluso A., Murru N., Ferrante M.C., Mercogliano R. 2017. Comparative study on the occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in breast milk and infant formula and risk assessment. *Chemosphere*. 175: 383-390.

Schulte P.A., Hauser J.E. 2012. The use of biomarkers in occupational health research, practice, and policy. *Toxicology Letters*. 213: 91-99.

Sivapathasundaram S., Sauer M.J., Ioannides C. 2003. Xenobiotic conjugation systems in deer compared with cattle and rat. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 134: 169-173.

Sun J., Shen Z., Zeng Y., Niu X., Wang J., Cao J., Gong X., Xu H., Wang T., Liu H., Yang L. 2018. Characterization and cytotoxicity of PAHs in PM_{2.5} emitted from residential solid fuel burning in the Guanzhong Plain, China. *Environmental Pollution*. 241: 359-368.

Tarafdar A., Sinha A. 2018. Public health risk assessment with bioaccessibility considerations for soil PAHs at oil refinery vicinity areas in India. *Science of The Total Environment*. 616-617: 1477-1484.

Teranishi M., Toyooka T., Ohura T., Masuda S., Ibuki Y. 2010. Benzo[a]pyrene exposed to solar-simulated light inhibits apoptosis and augments carcinogenicity. *Chemico-Biological Interactions*. 185: 4-11.

Tian K., Bao H., Zhang X., Shi T., Liu X., Wu F. 2018. Residuals, bioaccessibility and health risk assessment of PAHs in winter wheat grains from areas influenced by coal combustion in China. *Science of The Total Environment*. 618: 777-784.

Tobiszewski M., Namieśnik J. 2012. PAH diagnostic ratios for the identification of pollution emission sources. *Environmental Pollution*. 162: 110-119.

UE, 2011. Reglamento (UE) No. 835/2011 de la comisión de 19 de agosto de 2011. Contenido máximo de hidrocarburos aromáticos policíclicos en los productos alimenticios. p.

Vives I., Grimalt J.O., Guitart R. 2001. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos y la salud humana. *Apuntes de Ciencia y Tecnología*. 3: 45-51.

Walker S.A., Whitten L.B., Seals G.B., Lee W.E., Archibong A.E., Ramesh A. 2006. Inter-species comparison of liver and small intestinal microsomal metabolism of fluoranthene. *Food and Chemical Toxicology*. 44: 380-387.

Wenzl T., Simon R., Anklaam E., Kleiner J. 2006. Analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in food and the environment needed for new food legislation in the European Union. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 25: 716-725.

Woudneh M.B., Benskin J.P., Grace R., Hamilton M.C., Magee B.H., Hoeger G.C., Forsberg N.D., Cosgrove J.R. 2016. Quantitative determination of hydroxy polycyclic aromatic hydrocarbons as a biomarker of exposure to carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Chromatography A*. 1454: 93-100.

Xia Z., Duan X., Qiu W., Liu D., Wang B., Tao S., Jiang Q., Lu B., Song Y., Hu X. 2010. Health risk assessment on dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Taiyuan, China. *Science of The Total Environment*. 408: 5331-5337.

Xu X., Liu J., Huang C., Lu F., Chiung Y.M., Huo X. 2015. Association of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and lead co-exposure with child physical growth and development in an e-waste recycling town. *Chemosphere*. 139: 295-302.

Yunker M.B., Macdonald R.W., Vingarzan R., Mitchell R.H., Goyette D., Sylvestre S. 2002. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry*. 33: 489-515.

Zanieri L., Galvan P., Checchini L., Cincinelli A., Lepri L., Donzelli G.P., Del Bubba M. 2007. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in human milk from Italian women: Influence of cigarette smoking and residential area. *Chemosphere*. 67: 1265-1274.

Zhang X., Li X., Jing Y., Fang X., Zhang X., Lei B., Yu Y. 2017. Transplacental transfer of polycyclic aromatic hydrocarbons in paired samples of maternal serum, umbilical cord serum, and placenta in Shanghai, China. *Environmental Pollution*. 222: 267-275.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. UBICACIÓN Y PERIODO DE MUESTREO

El área de estudio en el Departamento del Meta se estableció de acuerdo a la ubicación de dos centros de acopio; uno del municipio de Cumaral, donde se colecta la leche cruda de los municipios de Restrepo, Medina y Cumaral, el otro en el municipio de Guamal donde se recibe leche de los municipios de Acacias, Guamal, Castilla La Nueva y San Martín de los Llanos. La producción diaria de leche del departamento del Meta para el 2015, fue aproximadamente de 427.301 litros los cuales fueron destinados al procesamiento de cuajada (23%), la pequeña industria (21%), comercialización cruda (32%) y a la gran industria (24%) (SDA, 2015), en esta última categoría se encuentran los centros de acopio seleccionados que representan el 31% del volumen de leche recolectado en el departamento, siendo el % restante acopiado por la industria de derivados lácteos formales, y otros centros de enfriamiento. La ubicación y algunas de las características climatológicas de estos municipios se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Características climatológicas de Cumaral y Guamal y Geoposición de los centros de acopio.

Municipio	Guamal	Cumaral
Ubicación**	Área urbana	Área suburbana
Altura sobre el nivel del mar (msnm)	524	410
Temperatura ° C *	18 a 28	21
Humedad relativa % *	86	86
Precipitación anual (mm) *	2000 a 6000	3300
Capacidad (L) **	50.000	20.000
Municipios de donde recibe leche**	Acacias, Castilla La Nueva, Guamal , San Martín-Meta	Restrepo, Cumaral-Meta y de Medina-Cundinamarca
Geoposición	Latitud 3,8815719 Longitud -73,7717969 h= 524 msnm	Latitud 4,15924 Longitud -73,28967 h= 410 msnm

Fuente: * IDEAM. Instituto de Hidrología y Meteorología y Estudios Ambientales. Boletín climatológico mensual. Año 2014 y 2015.

Las muestras fueron tomadas en el período comprendido entre septiembre de 2014 a marzo de 2015 según el nivel de precipitación, definiendo los períodos de mayor precipitación (n=24) y menor precipitación (n=24), aguas ascendentes (n=20) y aguas descendentes (n=24), siendo el número total de muestras tomadas de 87 (IDEAM, 2014-2015), ésta variable se incluyó en el estudio ya que existen investigaciones que demuestran el efecto de los niveles de precipitación atmosférica sobre el comportamiento de contaminantes químicos atmosféricos como los bifenilos policlorinados que pueden determinar los niveles presentes en matrices como la leche bovina y las pasturas (Jesús Pérez *et al.*, 2012; Tato *et al.*, 2011) y que se considera para el área del presente estudio podrían verse afectados en razón a las épocas marcadas en la precipitación (Anexo 1).

4.2. PREPARACION DEL MATERIAL TOMA DE MUESTRA

La toma de las muestras de leche para el análisis físico químico se realizó en recipientes de polietileno estériles con una capacidad de 30 ml con tapa. Para la determinación de hidrocarburos, la muestra de leche se recolectó en frascos de vidrio boca ancha aptos para la industria de alimentos con capacidad de 250 ml, con tapa rosca metálica, los cuales fueron sometidos a un procedimiento de limpieza y desinfección de material de vidrio usado en el laboratorio para el análisis de contaminantes químicos persistentes (COPs) siguiendo el protocolo establecido por el Laboratorio de química y medio ambiente de la Universidad de Cartagena, el cual consiste en: lavado con agua y jabón neutro (sin perfume ni aditivos especiales), enjuague con agua destilada y secado en estufa a 110°C por 30 a 60 minutos. Secos y a temperatura ambiente se lavan con dos porciones de acetona y dos porciones de N-hexano y se secan con aire caliente en la parte externa, se tapan y empacan para ser trasladados al sitio de muestreo (Figura 1).



Figura 1. a, b. Reactivos y c, d Lavado y secado material para toma de muestras HAPs.

4.3. TOMA DE MUESTRAS RUTAS DE LECHE Y SILO DE ALMACENAMIENTO

Se realizó el muestreo en las diferentes rutas de leche que llegan a los centros de acopio de los municipios de Cumaral y Guamal en el Departamento del Meta. Las muestras de leche se tomaron directamente de las cantinas y tanques isotérmicos utilizados para el transporte de leche, se requirió de un agitador de acero inoxidable y disco perforado de 16 cm y 70 cm de largo con mango y con sistema de agarre, limpio y desinfectado, un vaso de extracción en aluminio o acero inoxidable con mango de 50 cm de largo para la toma de la muestra, recipientes metálicos, plásticos y de vidrio. Para cada una de las muestras se cumplió con una buena agitación que garantizara la calidad de la muestra para el análisis; cuando el carro transportador incluía varios proveedores y la leche llegaba al centro de acopio en cantinas se realizaba una toma por cantina que se colectaba en un recipiente y de este se tomaba la muestra correspondiente a la ruta, en tanques isotérmicos la toma de la muestra se realizó por compartimiento.

Terminado el proceso de recibo, se procedió a tomar la muestra del silo previa agitación de la leche (dispersión de dos fases no miscibles) realizando la toma en el punto toma muestra del silo, ésta leche ya se encontraba a una temperatura aproximada de 4°C.

La toma de la muestra para hidrocarburos se realizó en los frascos de vidrio tapa ancha con tapa metálica identificados tanto en la tapa como en el frasco con cinta de enmascarar y marcador permanente. Tomada la muestra, se tapó colocando previamente una sección de papel aluminio y se llevó a refrigeración, se transportó con pilas de gel en cavas de poliestireno expandido y en un tiempo no mayor a 3 horas se llevaron a congelación a una temperatura de -20°C . Igualmente, se tomó una muestra en frasco plástico para realizar el análisis fisicoquímico en el recipiente debidamente identificado para garantizar la trazabilidad de la muestra, hasta el análisis que se realizó el mismo día, y la obtención de los resultados (Figura 2).

a.



b.



c.



d.



e.



f.



Figura 2. Toma de muestras de leche, transporte y almacenamiento: a. Elementos para toma de muestras de leche cruda, b, c Silos y cantinas de almacenamiento de leche cruda, d, e Toma de muestras de leche cantinas y silo de almacenamiento f. Transporte de muestras refrigeradas.

4.4. ANALISIS COMPOSICIONAL FISICOQUÍMICO

Los análisis físicos químicos realizados en las muestras de leche fueron temperatura (°C), acidez, pH, densidad, grasa (%), proteína (%), sólidos no grasos (%), sólidos totales (%), e índice crioscópico. La temperatura y la densidad se tomaron con el termo lactodensímetro con calibración 15/15, en donde la leche es vertida en una probeta de 250 ml para ubicar el termo lactodensímetro de forma vertical y al quedar estabilizado se realiza la lectura y se registra en el respectivo formato.

La determinación de la acidez se realizó mediante titulación con Hidróxido de sodio (NaOH) al 0.1 N, solución de fenolftaleína al 1% en alcohol etílico de 95-96 G.L neutralizado, según la NTC 4978/2001(ICONTEC, 2001), que de manera resumida se realiza tomando 9 ml de leche en un vaso de precipitado, se adicionan 4 gotas de la solución indicadora de fenolftaleína, se inicia la titulación con el hidróxido de Na 0.1 N agitando constantemente hasta que se torne una coloración rosa pálido y se mantenga por un tiempo aproximado de 15 segundos, el resultado obtenido se divide por 100 y corresponde a la cantidad de ácido láctico expresado en porcentaje.

Para la determinación del pH se utilizó un medidor manual electrónico handylab pH/LF 12 marca Schott instruments, con un rango de medición de pH/mV rango/resolución -2.00 +19.99, exactitud (± 1 dígito) ± 0.001 (Analytics, 2009), con control de variaciones y evaluación de sensor. El procedimiento se realizó ubicando el sensor limpio en la leche previa calibración del equipo con buffers técnicos. La información de la pantalla es registrada en el formato correspondiente.

El índice crioscópico se determinó con un Cryostar I de Funke Gerber que permite medir el punto de congelamiento de la leche (Medición de referencia según DIN/ISO/IDF 5764) (ISO, 2009). Las especificaciones técnicas establecen una exactitud en la medición de 0.0001°C ($0.1\text{m}^{\circ}\text{C}$), repetibilidad $\pm 0.002^{\circ}\text{C}$ (± 2.0

m°C), alcance de medición 0,0000°C hasta -1.5000°C, volumen de las muestras de 2.0 a 2.5 ml (cantidad recomendada; 2.2 ml).

Los análisis composicionales de proteína, grasa, SNG y ST en la leche se realizaron con un equipo ultrasónico automático pantalla LCD 4 líneas x 16 caracteres calibrado para leche de vaca que usa como métodos de referencia para los parámetros de grasa, proteína, sólidos no grasos a partir de las metodologías Gerber, Kjeldahl y gravimétrico, respectivamente, de las muestras colectadas en ruta al momento del recibo y de los silos de almacenamiento. Los rangos de medición para grasa fueron de 0.01 a 25%, en sólidos no grasos de 3 a 40%, densidad de 1000 a 1150 kg/m³ (estos datos se muestran en forma abreviada, para su determinación lectura en la pantalla y se adiciona 1000: 31.8 entiéndase 1031.8), proteína entre 2 al 7%. La exactitud para grasa es de $\pm 0.06\%$, para SNG de $\pm 0.15\%$, densidad ± 0.3 kg/m³, y proteína; $\pm 0.15\%$, esto en condiciones de temperatura de 10°C a 40°C (43°C), humedad relativa de 30 a 80% y un volumen requerido para la medición de 15 ml (Milkotronic, 2012). Para la determinación de los sólidos totales se aplica la fórmula $ST (\%) = SNG (\%) + Grasa (\%)$.

Para el análisis de la leche, primero se preparó el equipo realizando el encendido correcto y el lavado con agua destilada y calibración, se colocó la muestra previamente preparada en el tubo de entrada sobre el soporte en la muesca del analizador, el equipo succiona la leche y durante la medición los resultados se muestran en la pantalla y permanecen hasta que una nueva medición sea efectuada, se consignaron los resultados en el formato correspondiente (Figura 3).



Figura 3. Análisis físico químico de leche cruda y almacenamiento muestras para posterior análisis de HAPs: a) Toma pH leche, b) Análisis punto crioscópico leche, c) Lactoscan análisis leche, d) Acidez titulable, e) Sistematización información, f) Muestras análisis, g) Almacenamiento de leche cruda, h) Muestras de leche en congelación, i) Muestras de leche identificadas para análisis.

4.5. METODO PARA LA DETERMINACIÓN DE HAPs EN LECHE BOVINA CROMATOGRFÍA DE GASES (GC) ACOPLADO A ESPECTROMETRÍA DE MASAS (MS)

En los objetivos del presente estudio no se contempló la estandarización de la técnica de determinación de los HAPs en leche bovina, y esta técnica fue tomada de la metodología estandarizada y descrita por Puente de la Cruz (2018) para determinación de HAPs en leche materna, como se describe a continuación:

4.5.1. Reactivos:

Los reactivos de laboratorio utilizados para la determinación de los hidrocarburos policíclicos aromáticos fueron grado analítico o grado cromatográfico: Etanol, n-hexano, acetona, hidróxido de sodio (NaOH) en lentejas (99%), sulfato de sodio (Na_2SO_4) (anhidro), sulfato de magnesio (MgSO_4) (anhidro) y cloruro de sodio (NaCl) grado analítico y agua para cromatografía líquida LiChorosolv, adquiridos de Merck (MA, USA). El diclorometano para UV, IR, HPLC marca Panreac Applichem (Barcelona-España), florisil (mesh 60-100) de SigmaAldrich (MO, USA) y nitrógeno gaseoso grado 5,0 del grupo Cryogas. El sulfato de sodio, sulfato de magnesio y florisil se secaron en un horno a 200°C durante 4 h, previo al uso para análisis.

El estándar nativo con 23 compuestos utilizado fue el PAH-STK-A PAH de la compañía Wellington Laboratories (ON, Canadá) y el estándar de marcación isotópica de PAHs deuterados (1,4-diclorobenceno- d_4 naftaleno- d_8 , acenaftenod $_{10}$, criseno- d_{12} y perileno- d_{12} , adquirido de Accustandard (CT, USA).

4.5.2. Preparación del material de vidrio

El material de vidrio utilizado se preparó realizando el lavado con agua y una solución de lauril sulfato de sodio al 5 %, se deja secar en estufa Merletto a una temperatura de 60°C y posterior secado con aire caliente por la parte exterior del material; ya seco se realiza el doble lavado con acetona grado reactivo en una cabina de extracción Biobase, seguido de un doble lavado con n-Hexano grado

reactivo y por último, el secado con aire caliente en la parte externa todo el proceso se realiza en la cabina de extracción.

4.5.3. Extracción y limpieza de la muestra

Las muestras de leche se dejaron a temperatura ambiente por aproximadamente una hora. Se tomaron 5g de leche en un vial ámbar con tapa rosca, los viales se llevaron a un sonicador durante 15 minutos para la homogenización de la muestra, se adicionaron posteriormente 5 ml de agua para cromatografía. Durante el proceso de estandarización de la técnica se trabajó con un blanco al que se le adicionaron 10 µl de estándar de recuperación deuterado (para determinar el desempeño del método) a una concentración de 1000 ng/ml agitándolo por 1 minuto en un vortex y dejándolo reposar por 30 minutos.

Para remover la grasa presente en la leche se adaptó la metodología descrita por Kishikawa (2003), mediante la saponificación de la muestra, adicionando 20 ml de NaOH 0,5 M preparado en etanol: agua (9:1) v/v que reacciona en baño de María a 60°C durante 5 h. Las muestras se dejaron atemperar y se procedió a la extracción adicionando 3 ml de n-hexano, agitando durante 1 min con vortex, se retiró la capa orgánica (capa superior). Repitiendo el procedimiento dos veces con 3 ml de n-hexano y combinado el producto de las tres extracciones en un balón redondo que se llevó a concentración en roto evaporador a 40°C hasta un volumen de 1 ml aproximadamente.

La limpieza de la muestra consta de cuatro pasos: el acondicionamiento del cartucho, la adición de la muestra, el lavado para la eliminación del material no deseado y la elución para la selección de los compuestos de interés

Para la preparación de las columnas se utilizó un cartucho de vidrio que ya cuenta con una capa compacta de silica gel (fase sólida), se adicionaron 1.5 g de Florisil® (Silicato de Magnesio), segunda capa y 0.5 gr de Sulfato de sodio (Na_2SO_4) anhidro. Esta extracción se realizó en una columna de extracción SUPELCO VISIPREP™ 24 Con vacío a una presión de vacío no mayor a 20 mm Hg. El acondicionamiento de la columna incluye la compactación de las capas para llenar

los poros que tienen los compuestos y limpiar las impurezas. Se adicionaron 6 ml de n-Hexano por la columna y se desechan con especial cuidado de no dejar secar el cartucho y posteriormente se agregó el extracto concentrado de muestra, esperando que el líquido estuviera a nivel con la sal para adicional 10 ml de solución de diclorometano: n-hexano (3:1 v/v). El eluato se traspasó a un balón de fondo redondo para concentrar por roto evaporación. Luego se colocó en un tubo para concentración Kuderna Danish (KD), y se concentró por corriente de N_2 hasta un volumen final de 100 μ l. El extracto se transfirió con una micro pipeta a un vial ámbar de 2 ml con inserto y se conservó a $-18^{\circ}C$ hasta su análisis.

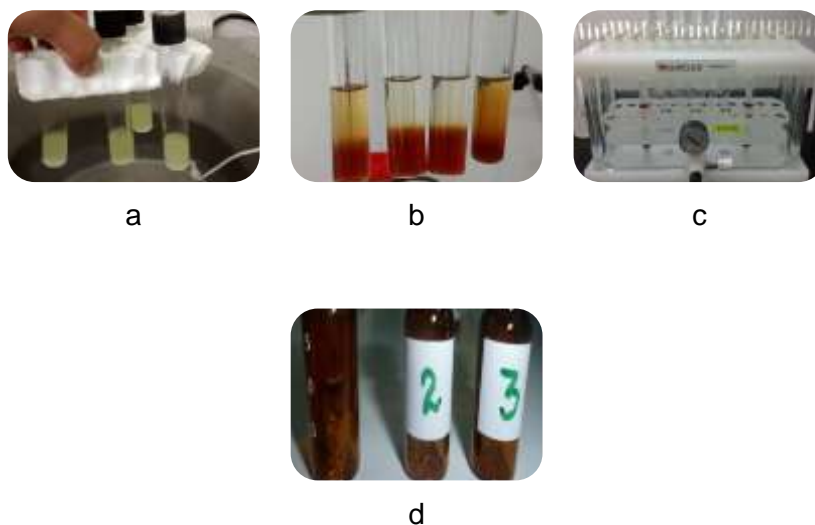


Figura 4. Extracción y limpieza de la muestra, a, b Saponificación de la muestra de leche, c extracción en fase sólida, d Muestra para inyección.

4.5.4. Análisis de la muestra

Equipo acoplado marca Thermo Scientific (GC-MS/MS). Automuestreador AI 1310, cromatógrafo de gases GC-Trace 1310 acoplado a espectrómetro de masas triple cuadrupolo TSQTM8000EVO. El software empleado fue ThermoXcalibur versión 3.0.

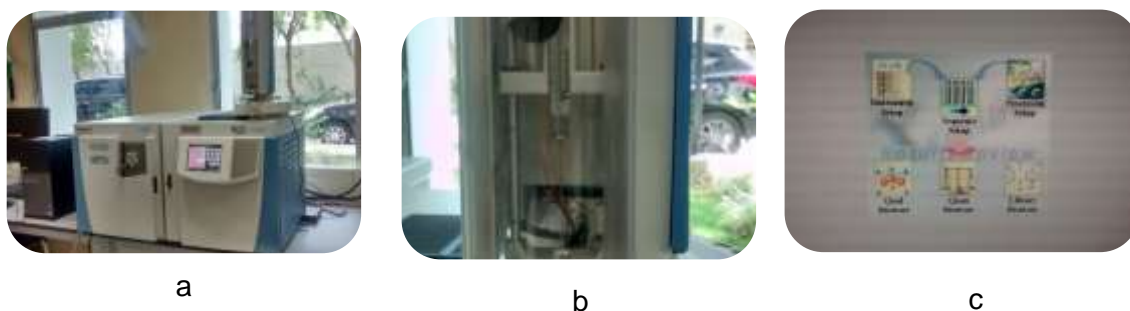


Figura 5. Equipo determinación de HAPs, a Cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas, b Automuestreador, c Software

Validada y estandarizada la metodología para la determinación de HAPs en leche materna, la técnica fue aplicada en las muestras de leche cruda bovina. El número de muestras analizadas en el presente trabajo fue de 44, para la selección de las muestras se partió de la situación que los costos para la realización de los análisis son muy altos; sin embargo, se incluyeron para la selección las variables época del año, municipio y punto de acopio, buscando la representatividad del estudio. Investigaciones realizadas en Latinoamérica para la determinación de HAPs en leche bovina comercial o cruda, reportan un número de muestras similar como el realizado en Uruguay con 44 muestras (García Londoño *et al.*, 2017) y en México de 60 (Gutiérrez *et al.*, 2015).

4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables analizadas en la leche cruda fueron las siguientes: volumen de recolección (l), temperatura (°C), acidez (% ácido láctico), pH, grasa (%), proteína (%), sólidos no grasos (%) (SNG), sólidos totales (%) (ST) y el índice crioscópico (IC). El análisis estadístico de las características físico - químicas de la leche (n=87) y el análisis estadístico de los HAPs en leche (n=44) se realizó mediante estadística descriptiva y los datos se expresaron como media \pm error estándar de

la media (SEM). Se aplicaron previamente pruebas de Kolmogorov-Smirnov, y los test de Bartlett y Ljunev, para determinar su normalidad y homogeneidad, respectivamente. Cuando no se cumplieron los anteriores supuestos se procedió a realizar transformación de los datos por medio de logaritmo y arcoseno. En aquellos casos que la transformación no fue efectiva para cumplir los supuestos, se realizó estadística no paramétrica a través del test de Kruskal-Wallis. El efecto de las diferentes épocas de precipitación y del lugar se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) de dos vías incluyendo como factores la época del año, el origen y su interacción y cuando se encontraron diferencias, se realizó ANOVA de una vía para los mismos factores anteriores, seguido de la prueba de Tukey-Kramer para realizar comparaciones de medias entre los tratamientos. En todos los casos, el valor de $p < 0.05$ fue utilizado para mostrar diferencias significativas. Se empleó el software SAS para Windows versión 9.02, el programa GraphPad Prism 5 para Windows versión 5.3 (1992-2010) GraphPad Software Inc y el programa IBM SPSS para Windows versión 20 para las representaciones gráficas y la definición de los componentes principales. Se realizó un análisis de correlación entre las variables físico - químicas de la leche y los HAPs detectados utilizando el paquete estadístico SPSS.

5. RESULTADOS

5.1. CARACTERÍSTICAS COMPOSICIONALES DE LA LECHE CRUDA

Los valores para cada una de variables composicionales analizadas en las 87 muestras de leche colectadas en los dos centros de acopio ubicados en los municipios de Cumaral y Guamal del departamento del Meta mostraron valores promedio para las características grasa, proteína, acidez e índice crioscópico, acordes a los establecidos para la leche en la normatividad sanitaria vigente para Colombia. Los valores del volumen corresponden al volumen de leche colectado en cada una de las rutas y el volumen de leche del silo de almacenamiento y para el caso de la temperatura de la leche corresponde a la temperatura tomada en las

rutas al momento de la llegada al centro de acopio y de la leche enfriada en el silo de almacenamiento, lo que explica las variaciones encontradas para éstas características. En cuanto a la acidez el valor promedio fue de 0.139, el pH tuvo una variación entre 6.35 y 6.82, la densidad (g/ml) entre 1.030 y 1.033; es de destacar los valores máximos para la grasa y la proteína de 4.13% como se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Características de leche cruda acopiada en los municipios de Cumaral y Guamal en el Departamento del Meta (n=87). Datos expresados como media \pm SEM, con sus valores mínimos y máximos.

Variable	Región	Zona Departamento del Meta *	Mínimo	Máximo
Volumen (l)		2148.6 \pm 283.1	120	10000
Temperatura de la leche (°C)		23.7 \pm 1.05	4	36
Acidez (% ácido láctico)		0.139 \pm 0.001	0.130	0.180
pH		6.7 \pm 0.01	6.35	6.82
Densidad (g/ml)		1032.02 \pm 0.06	1.030	1.033
Grasa (%)		3.30 \pm 0.06	3.01	4.13
Proteína (%)		3.2 \pm 0.05	3.1	4.13
Sólidos no grasos (%)		8.8 \pm 0.01	8.4	9.4
Sólidos totales (%)		12.1 \pm 0.03	11.7	13.3
Índice crioscópico		-0.533 \pm 0.001	-0.547	-0.500

*Valores expresados medias \pm error estándar

En las variables acidez, índice crioscópico y grasa no se presentaron diferencias significativas ($p>0.05$) entre los sitios de muestreo; en contraste las variables volumen, temperatura de la leche, pH, densidad, proteína, sólidos no grasos y sólidos totales si presentaron diferencias ($p<0.05$) entre sitios de muestreo, para el caso del pH se observó que la ruta de Castilla La Nueva presentó un valor más bajo y con diferencia significativa con las leche muestreadas de Medina, los silos de almacenamiento, Restrepo, Acacias y Cumaral. Se encontraron diferencias significativas ($p<0.05$) entre la leche almacenada en el silo de Guamal (6.78 \pm

0.01) y las rutas provenientes de los municipios de Castilla La Nueva (6.60 ± 0.03), San Martín de los Llanos (6.62 ± 0.01) y Guamal (6.66 ± 0.01) (Tabla 3).

Al evaluar el comportamiento de la temperatura de la leche colectada y del volumen de la ruta de muestreo, éstas variables arrojaron diferencias significativas predecibles, ya que corresponden a la comparación del volumen de recolección de leche de cada una de las rutas y el volumen del silo de almacenamiento, donde el valor promedio fue de 2148.6 ± 283.1 l con valores mínimos y máximos de 120 a 10.000 l, respectivamente, y para el caso de la temperatura corresponde a la temperatura de las rutas (leche a temperatura ambiente) y de la leche enfriada almacenada en los silos siendo el valor mínimo 4°C y el máximo 36°C .

Tabla 3. Características de volumen, temperatura y pH de leche cruda colectada en municipios del Departamento del Meta y Medina del Departamento de Cundinamarca. Datos expresados como media \pm SEM.

Municipio	n *	Volumen (l)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	pH
Silo Guamal	8	7566.4 ± 964.9^a	5.0 ± 0.3^b	6.78 ± 0.01^a
Silo Cumaral	7	7117.0 ± 891.3^a	4.1 ± 0.1^b	6.74 ± 0.02^{abc}
Restrepo	6	1776.0 ± 226.2^b	28.4 ± 2.5^a	6.69 ± 0.05^{abc}
Acacias	11	1583.4 ± 170.6^b	28.3 ± 1.1^a	6.67 ± 0.01^{bcd}
Medina	7	1236.3 ± 43.2^b	27.3 ± 2.6^a	6.75 ± 0.04^{ab}
Castilla La Nueva	9	1185.2 ± 97.7^b	28.0 ± 0.6^a	6.60 ± 0.03^d
San Martín de los Llanos	7	927.0 ± 188.8^b	30.3 ± 0.6^a	6.62 ± 0.01^{cd}
Cumaral	13	870.8 ± 118.8^b	25.8 ± 1.9^a	6.74 ± 0.01^{ab}
Guamal	19	598.8 ± 66.2^b	27.5 ± 0.9^a	6.66 ± 0.01^{cd}

^{a b}: Entre sitios de muestreo, medias con distinta letra indican diferencias significativas ($p < 0.05$) n* = Número de muestras analizadas

Para la variable grasa no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las rutas evaluadas, situación diferente a la encontrada para los SNG donde el silo Guamal presenta el valor más bajo con diferencia significativa ($p < 0.05$) con silo

Cumaral, Restrepo, Acacias y Cumaral siendo el comportamiento similar para la densidad, como se relaciona en la Tabla 4.

Tabla 4. Características físico - químicas (grasa, SNG y densidad) de leche cruda colectada en municipios del Departamento del Meta y Medina de Cundinamarca. Datos expresados como media \pm SEM.

Municipio	n*	Grasa (%)	SNG (%)	Densidad 15% 15°C (g/ml)
Silo Guamal	8	3.26 \pm 0.05 ^a	8.63 \pm 0.04 ^c	1031.31 \pm 0.18 ^c
Silo Cumaral	7	3.28 \pm 0.06 ^a	8.93 \pm 0.04 ^a	1032.56 \pm 0.11 ^a
Restrepo	6	3.35 \pm 0.04 ^a	8.86 \pm 0.05 ^{ab}	1032.23 \pm 0.17 ^{ab}
Acacias	11	3.39 \pm 0.07 ^a	8.83 \pm 0.07 ^{ab}	1032.01 \pm 0.21 ^{ab}
Medina	7	3.29 \pm 0.02 ^a	8.93 \pm 0.01 ^a	1032.53 \pm 0.04 ^a
Castilla La Nueva	9	3.33 \pm 0.04 ^a	8.81 \pm 0.03 ^{ab}	1031.99 \pm 0.12 ^{ab}
San Martín de los Llanos	7	3.21 \pm 0.06 ^a	8.80 \pm 0.04 ^{abc}	1032.07 \pm 0.15 ^{ab}
Cumaral	13	3.26 \pm 0.04 ^a	8.88 \pm 0.03 ^a	1032.35 \pm 0.10 ^a
Guamal	19	3.30 \pm 0.06 ^a	8.75 \pm 0.02 ^{bc}	1031.80 \pm 0.08 ^{bc}

^{a b c}: Entre sitios de muestreo, medias con distinta letra indican diferencias significativas ($p < 0,05$) n* = Número de muestras analizadas. SNG: Sólidos no grasos.

La característica de acidez según el municipio no presentó diferencias significativas, esto puede reflejar una estandarización en la calidad de la leche al momento del recibo en el centro de acopio, en cuanto a las otras características es de destacar que el valor más alto para la proteína fue para los municipios de Medina y silo Cumaral con diferencia significativa ($p < 0.05$) con la leche del silo Guamal que presentó el valor más bajo, siendo igual el resultado para la características ST, donde el valor más alto también se reporta para el municipio de Medina (Tabla 5).

Tabla 5. Características físico - químicas (acidez, proteína, ST e índice crioscópico) de leche cruda colectada en municipios del Departamento del Meta. Datos expresados como media \pm SEM

Municipio	n *	Acidez % ácido láctico	Proteína (%)	ST (%)	Índice crioscópico
Silo Guamal	8	0.138 \pm 0.00 ^a	3.16 \pm 0.01 ^b	11.88 \pm 0.02 ^b	-0.53 \pm 0.00 ^a
Silo Cumaral	7	0.137 \pm 0.00 ^a	3.24 \pm 0.01 ^a	12.22 \pm 0.09 ^a	-0.53 \pm 0.00 ^a
Restrepo	6	0.140 \pm 0.00 ^a	3.19 \pm 0.02 ^{ab}	12.19 \pm 0.07 ^{ab}	-0.53 \pm 0.01 ^a
Acacias	11	0.137 \pm 0.00 ^a	3.23 \pm 0.03 ^{ab}	12.21 \pm 0.13 ^{ab}	-0.53 \pm 0.00 ^a
Medina	7	0.138 \pm 0.00 ^a	3.24 \pm 0.01 ^a	12.22 \pm 0.03 ^a	-0.53 \pm 0.01 ^a
Castilla La Nueva	9	0.143 \pm 0.00 ^a	3.21 \pm 0.01 ^{ab}	12.14 \pm 0.06 ^{ab}	-0.54 \pm 0.00 ^a
San Martín de los Llanos	7	0.139 \pm 0.00 ^a	3.21 \pm 0.01 ^{ab}	12.00 \pm 0.07 ^{ab}	-0.53 \pm 0.00 ^a
Cumaral	13	0.138 \pm 0.00 ^a	3.22 \pm 0.01 ^{ab}	12.14 \pm 0.07 ^{ab}	-0.53 \pm 0.01 ^a
Guamal	19	0.139 \pm 0.00 ^a	3.19 \pm 0.01 ^{ab}	12.05 \pm 0.06 ^{ab}	-0.54 \pm 0.00 ^a

^{a b c}: Entre sitios de muestreo, medias con distinta letra indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Kruskal-Wallis n^* = Número de muestras analizadas. ST: Sólidos totales.

Con relación a las épocas del año, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) para el pH, temperatura, grasa, proteína, sólidos totales e índice crioscópico según el nivel de precipitación. Los mayores valores para el pH se presentaron para las épocas de mayor y menor precipitación ($6,71 \pm 0,01$), mientras que para las características grasa ($3,44 \pm 0,06$ %), SNG ($8,86 \pm 0,05$ %), proteína ($3,24 \pm 0,02$ %) y ST ($12,29 \pm 0,07$ %) la época de lluvias descendentes mostró los promedios más altos. En cuanto a la grasa, la época de lluvias descendentes presentó el mayor valor existiendo diferencia significativa ($p > 0.05$) con las demás épocas. De igual manera los ST, fueron mayores en la época de lluvias descendentes con diferencia significativa para la época de lluvias ascendentes, donde se reporta el menor valor. El volumen de recolección no presentó variación entre las épocas del año evaluadas, probablemente dado a condiciones de comercialización y capacidad (Tabla 6).

Tabla 6. Características de leche cruda colectada en municipios del Departamento del Meta según época del año. Datos expresados como media \pm SEM.

Variables	Época	Lluvias ascendentes (n=20)	Mayor precipitación (n=24)	Lluvias descendentes (n=19)	Menor precipitación (n=24)
Volumen (l)		2399.4 \pm 664.7 ^a	1794.8 \pm 408.68 ^a	1994.7 \pm 553.7 ^a	2415.3 \pm 643.1 ^a
Temperatura de la leche(°C)		27.1 \pm 2.3 ^a	22.4 \pm 1.8 ^{bc}	19.3 \pm 2.12 ^c	25.8 \pm 2.1 ^{ab}
Acidez % ácido láctico		0.14 \pm 0.001 ^a	0.14 \pm 0.01 ^a	0.14 \pm 0.003 ^a	0.14 \pm 0.001 ^a
pH		6.7 \pm 0.02 ^a	6.7 \pm 0.02 ^b	6.7 \pm 0.03 ^{ab}	6.7 \pm 0.01 ^{ab}
Densidad 15% 15°C g/ml		1031.9 \pm 0.08 ^a	1032.1 \pm 0.09 ^a	1032.1 \pm 0.19 ^a	1032.1 \pm 0.09 ^a
Grasa %		3.3 \pm 0.06 ^b	3.3 \pm 0.03 ^b	3.4 \pm 0.06 ^a	3.3 \pm 0.03 ^b
Proteína %		3.2 \pm 0.03 ^a	3.2 \pm 0.01 ^{bc}	3.2 \pm 0.02 ^c	3.2 \pm 0.01 ^{ab}
Sólidos No Grasos (%)		8.8 \pm 0.02 ^a	8.8 \pm 0.03 ^a	8.9 \pm 0.02 ^a	8.8 \pm 0.02 ^a
Sólidos Totales (%)		11.1 \pm 0.04 ^a	12.1 \pm 0.04 ^{ab}	12.3 \pm 0.07 ^b	12.1 \pm 0.05 ^{ab}
Índice crioscópico		-0.54 \pm 0.002 ^a	-0.54 \pm 0.001 ^a	-0.54 \pm 0.002 ^a	-0.52 \pm 0.003 ^b

^{a b c}: Entre sitios de muestreo, medias con distinta letra indican diferencias significativas (p<0,05). n*= Número de muestras analizadas

Al comparar los sitios de muestreo por centro de acopio (Cumaral y Guamal), se observaron diferencias (p<0.05) en las características de pH, donde el valor para Guamal fue menor, al igual que la densidad, los sólidos no grasos y los sólidos totales, en cuanto a la acidez y el índice crioscópico no se reporta diferencias significativas. Para las variables densidad, proteína, sólidos no grasos y los sólidos totales, el área de Cumaral reporta valores más altos (Tabla 7).

Tabla 7. Características de leche cruda colectada en dos puntos de acopio del Departamento del Meta. Datos expresados como media \pm SEM.

Variable	Área	Cumaraí (n=33)	Guamal (n=54)
Volumen (l)		2437.85 \pm 471.84 ^a	1971.87 \pm 354.72 ^a
Temperatura de la leche (°C)		21.98 \pm 1.93 ^a	24.8 \pm 1.21 ^a
Acidez titulable (% ácido láctico)		0.138 \pm 0.001 ^a	0.139 \pm 0.001 ^a
pH		6.74 \pm 0.01 ^a	6.66 \pm 0.01 ^b
Densidad (g/ml)		1032.43 \pm 0.06 ^a	1031.84 \pm 0.07 ^b
Grasa (%)		3.29 \pm 0.02 ^a	3.30 \pm 0.03 ^a
Proteína (%)		3.22 \pm 0.008 ^a	3.20 \pm 0.007 ^b
Sólidos no grasos (%)		8.91 \pm 0.02 ^a	8.76 \pm 0.02 ^b
Sólidos totales (%)		12.20 \pm 0.03 ^a	12.07 \pm 0.04 ^b
Índice Crioscópico		-0.528 \pm 0.003 ^a	-0.535 \pm 0.001 ^a

^{a,b}: Medias con distinta letra en fila diferencia significativa ($p < 0,05$)

5.2. HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (HAPs) EN LECHE CRUDA BOVINA

El estándar utilizado para la determinación de los HAPs en leche cruda incluyó los siguientes 23 hidrocarburos: Naftaleno (NA), Acenaftileno (ACL), Acenafteno (AC), Fluoreno (FL), Fenantreno (PHE), Antraceno (AN), Fluoranteno (FA), Pireno (PY), Ciclopenta (cd) Pireno (CPP), Benzo(a)antraceno (BaA), Criseno (CHR), 5-Metilcriseno (5-MCH), Benzo(b)Fluoranteno (BbFA), Benzo(k)Fluoranteno (BkFA), Benzo(j)Fluoranteno (BjFA), Benzo(a)Pireno (BaP), Benzo (g,h,i) Perileno (BghiP), Dibenzo (a,h) Antraceno (DBahA), (Indeno (1,2,3-cd) Pireno (IP), Dibenzo (a,l) Pireno (DBalP), Dibenzo (a,e) Pireno (DBaeP), Dibenzo (a,i) Pireno (DBaiP), Dibenzo (a,h) Pireno (DBahP), de los cuales el BghiP, DBahA, DBalP, DBaiP, DBahP y DBaeP presentaron valores por debajo del límite de detección en todas las muestras. De las 44 muestras analizadas, los HAPs detectados en menor número de muestras fueron el AC y BaP, presentes en 17 muestras y el HAP

detectado en mayor número de muestras (37 muestras) fue el criseno, siendo importante mencionar que el CPP, BbFA, BjFA y BkFA, que corresponden a HAPs de 4 anillos estuvieron presentes en el 73% de las muestras analizadas. (Figura 6).

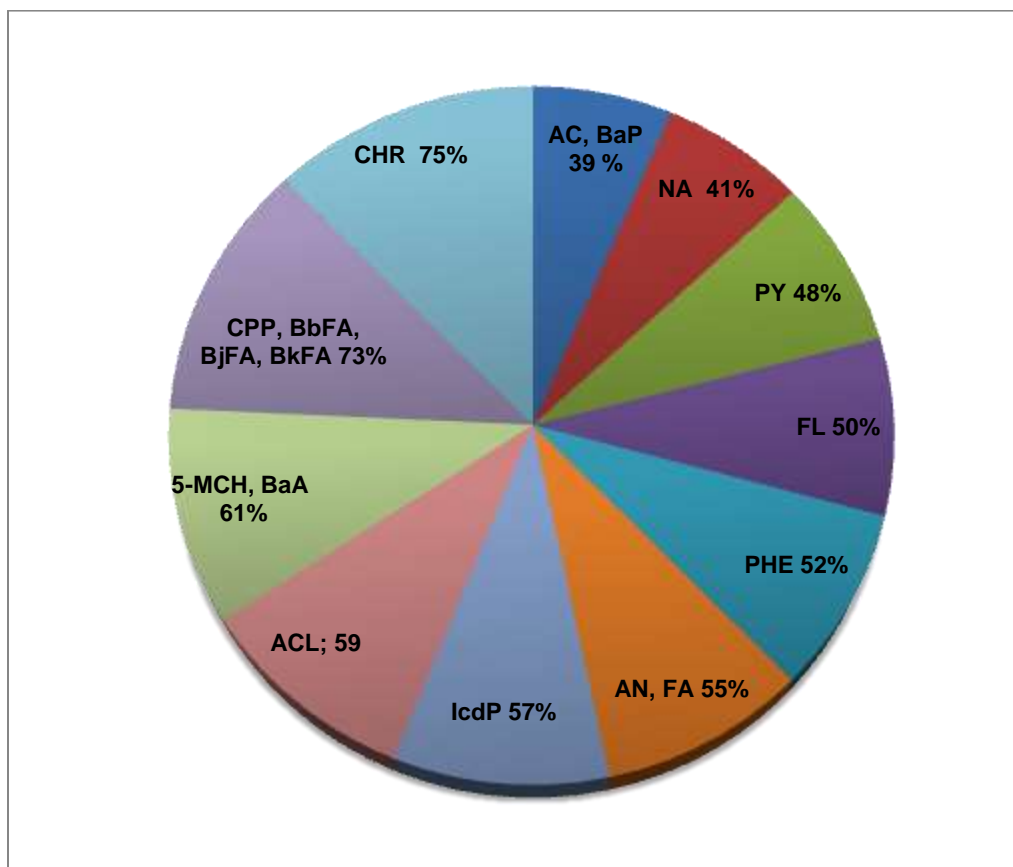


Figura 6. Porcentaje de muestras con presencia de cada uno de los HAPs detectados en las 44 muestras de leche cruda bovina analizada.

Los valores de la media y error estándar para cada uno de los HAPs detectados se muestran en la Figura 7, donde se observa que los HAPs con los mayores niveles fueron el antraceno ($2,99 \pm 0,52$ ng/g de leche), fenantreno ($1,68 \pm 0,30$ ng/g de leche), pireno ($1,01 \pm 0,25$ ng/g de leche), fluoranteno ($0,83 \pm 0,21$ ng/g de leche), acenafteno ($0,30 \pm 0,13$ ng/g de leche) y fluoreno ($0,27 \pm 0,08$ ng/g de leche) y el HAP presente en menor concentración corresponde al 5-metil criseno

($0,03 \pm 0,01$ ng/g de leche), igualmente se determinó como referencia la mediana para los HAPs individuales; sin embargo al existir muestras en las que no se detectaron niveles de HAPs, la aplicabilidad de la mediana es limitada. El valor de la mediana para la sumatoria total de HAPs, la Σ HAPs de 2 y 3 anillos, Σ HAPs de 5 anillos y Σ HAPs de 6 anillos fueron de 8.147, 5.855, 2.159 y 0.289 ng/g de leche, la información de la mediana para cada uno de los HAPs se muestra en el Anexo 2, indicando además el número de muestras en las que se detectaron niveles en leche de cada uno de los compuestos.

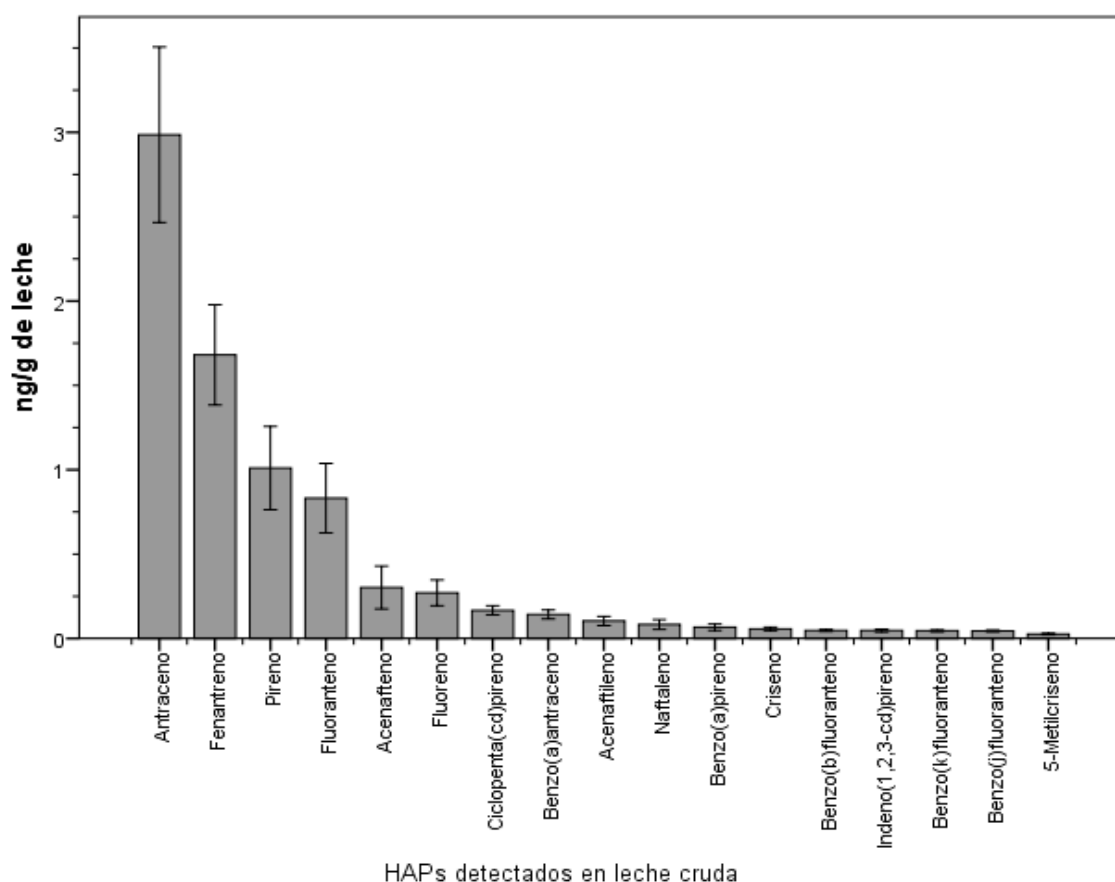


Figura 7. Concentración de los HAPs detectados en muestras leche cruda del departamento del Meta (2014 - 2015). Datos expresados como media y error estándar de la media.

Los valores de los HAPs detectados según el municipio no mostraron diferencias significativas, para la totalidad de los municipios existieron muestras de leche con niveles de los 17 HAPs detectados, a excepción del municipio de Acacias, donde en ninguna de las muestras analizadas se detectó el IcdP. En cuanto al porcentaje de muestras en las que se detectaron los HAPs, es de resaltar la presencia de AC, CPP, 5MCH, BbFA, BkFA y BjFA en el 100% de las muestras analizadas del municipio de San Martín de los Llanos, CPP para las muestras de Guamal, CHR para Medina y Cumaral y BjFA y IcdP para las muestras del municipio de Castilla La Nueva, siendo los municipios de San Martín de los Llanos (10.164 ± 6.292 ng/g de leche) y Medina (10.515 ± 2.679 ng/g de leche) los que reportan los valores mayores para el total de HAPs (Anexo 3). Los resultados según el lugar de acopio evidenciaron diferencias significativas ($p < 0.05$) para el criseno, estando presente en mayor concentración en las muestras de leche analizadas del punto de acopio de Cumaral, siendo el PHE, AN, FL y PY los HAPs detectados en mayor concentración en el punto de acopio de Cumaral como se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8. Concentración de HAPs en ng/g de leche cruda, según lugar de acopio (valores expresados como media \pm error estándar de la media).

Municipio Compuesto	Cumaral (n=16)		Guamal (n=28)	
	Media \pm SEM	Rango	Media \pm SEM	Rango
NA	0.09 \pm 0.04	0.001 - 0.505	0.08 \pm 0.04	0.001 - 0.903
ACL	0.07 \pm 0.02	0.022 - 0.213	0.12 \pm 0.04	0.033 - 0.86
AC	0.09 \pm 0.05	0.036 - 0.616	0.42 \pm 0.20	0.004 - 4.42
FL	0.27 \pm 0.10	0.15 - 1.29	0.27 \pm 0.11	0.003 - 2.53
PHE	1.88 \pm 0.47	1.95 - 4.69	1.57 \pm 0.39	0.90 - 6.41
AN	3.31 \pm 0.80	0.28 - 8.30	2.80 \pm 0.68	1.84 - 11.38
FA	1.19 \pm 0.45	0.80 - 7.04	0.63 \pm 0.20	0.03 - 4.46
PY	1.59 \pm 0.57	0.33 - 8.07	0.68 \pm 0.19	0.11 - 3.40
CPP	0.13 \pm 0.05	0.01 - 0.70	0.19 \pm 0.03	0.01 - 0.46
BaA	0.19 \pm 0.05	0.01 - 0.46	0.11 \pm 0.03	0.01 - 0.65
CHR	0.08 \pm 0.02 ^a	0.02 - 0.36	0.04 \pm 0.01 ^b	0.01 - 0.18
5-MCH	0.03 \pm 0.01	0.01 - 0.12	0.02 \pm 0.01	0.01 - 0.09
BbFA	0.05 \pm 0.01	0.02 - 0.12	0.05 \pm 0.01	0.03 - 0.14
BkFA	0.05 \pm 0.02	0.02 - 0.12	0.04 \pm 0.01	0.03 - 0.13
BjFA	0.05 \pm 0.01	0.02 - 0.12	0.04 \pm 0.01	0.03 - 0.12
BaP	0.04 \pm 0.03	0.02 - 0.33	0.08 \pm 0.03	0.02 - 0.45
IcdP	0.06 \pm 0.02	0.03 - 0.25	0.04 \pm 0.01	0.03 - 0.15
Σ Total HAPs	9.18 \pm 1.728	0.29 - 17.91	7.18 \pm 1.47	0.03 - 29.75

Σ Total HAPS: Sumatoria de los 17 HAPs detectados en leche cruda, (HAPs nd: BghiP, DBaH, DBaI, DBaP, DBaP, DBaP, DBaP), n: Número de muestras analizadas, ^{a,b,c}: medias con distinta letra indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Ante la variabilidad de los datos en este estudio, se aplicó el análisis estadístico multivariado de componentes principales (ACP) donde los tres componentes principales explicaron el 73.48% de la variabilidad de los datos (Anexo 5). El componente 1 incluyó los HAPs BbFA, BkFA, BjFA, BaA, IcdP y BaP, en el componente 2 se incluyen el FL, ACL, AC, NA y en el componente 3 el CHR, PY y FA (Anexo 6); de acuerdo a lo anterior la agrupación de los HAPs concuerda con el número de anillos que los componen, siendo el primer componente los de 2 y 3 anillos, el segundo, los de cuatro anillos y el tercer componente, los de 5 y 6 anillos (Figura 8). La presentación de los datos fue mediante gráficos comparativos de barras agrupando los HAPs según el número de anillos y se

aplicó el análisis de relaciones para la identificación de las probables fuentes de los HAPs. Definiéndose los tres grupos como se describe a continuación: sumatoria de HAPs de 2 y 3 anillos la conformada por: NA, AC, ACL, FL, PHE y el AN, el grupo de los HAPs de 4 anillos por el FA, PY, BaA, CPP, 5-MCH y CHR y la sumatoria de los HAPs de 5 y 6 anillos por el BbFA, BkFA, BjFA, BaP y el IcdP.

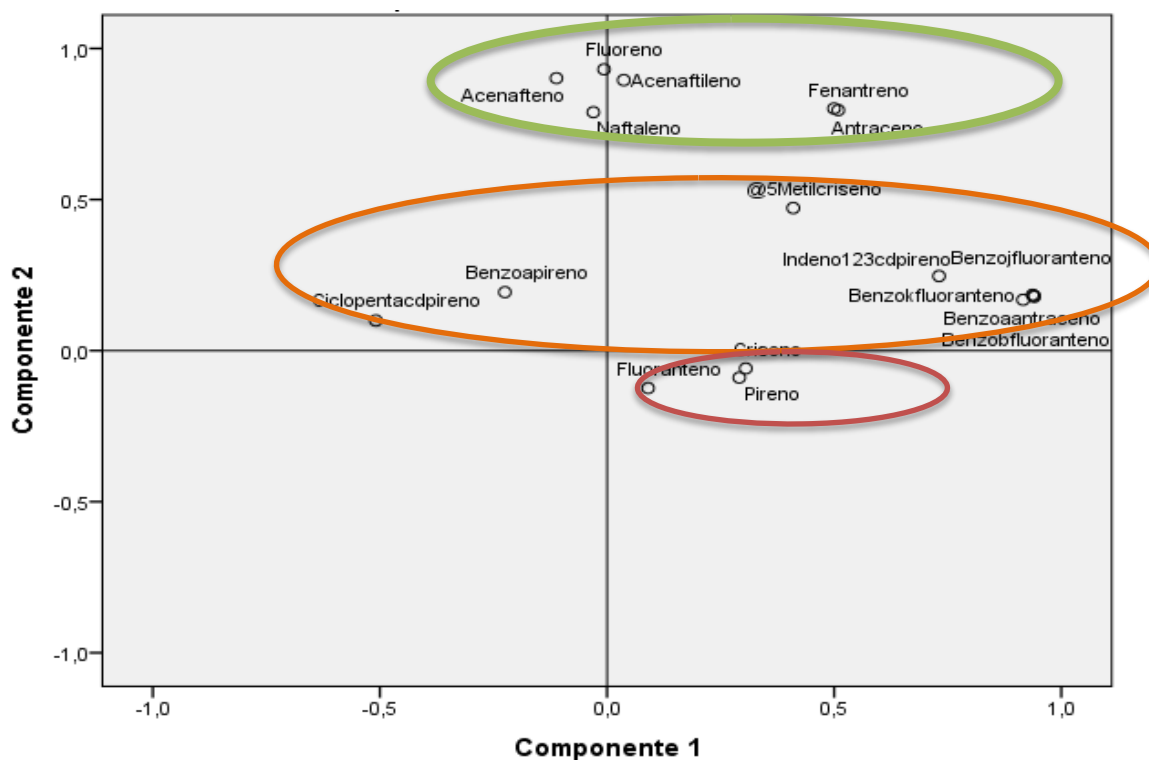


Figura 8. Gráfico componentes principales de HAPs en leche cruda, muestras colectadas en dos centros de acopio del departamento del Meta.

En referencia a la sumatoria total de los HAPs según el número de anillos, los valores totales fueron de 5.43 ± 1.004 ng/g de leche, para los de 2 y 3 anillos, $2.23 \pm 0,43$ ng/g de leche para los de 4 anillos y 0.25 ± 0.29 ng/g de leche para los de 5 y 6 anillos.

El análisis de comparación de medias según el municipio, no presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) entre municipios; sin embargo, es de mencionar que los

municipios con valores más altos en cuanto a la Σ HAPs 2 y 3 anillos fueron San Martín, Castilla la Nueva, Medina y Acacias siendo de 8.63 ± 6.43 , 7.49 ± 2.60 , 5.96 ± 2.34 y 5.34 ± 3.75 ng/g de leche, respectivamente. Para Σ HAPs 4 anillos el municipio con valores mayores fue Medina (4.40 ± 2.11 ng/g de leche), seguido de Guamal (1.99 ± 0.68 ng/g de leche), Castilla La Nueva (1.76 ± 0.52 ng/g de leche) y Cumaral (1.51 ± 0.46 ng/g de leche). La presencia de HAPs de 5 y 6 anillos en la leche fue la más baja en comparación con los otros grupos de HAPs, siendo los municipios de Cumaral (0.36 ± 0.11 ng/g de leche) y Castilla La Nueva (0.34 ± 0.07 ng/g de leche) donde se detectaron en mayor concentración (Figura 9).

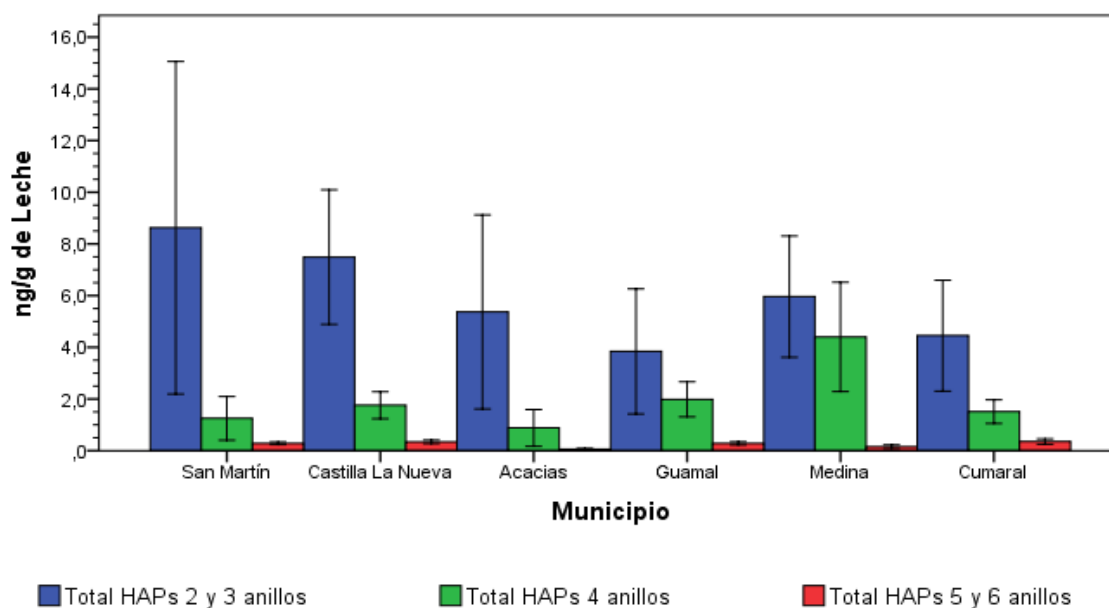


Figura 9. Concentración de Σ HAPs 2 y 3 anillos, Σ HAPs 4 anillos, Σ HAPs 5 y 6 anillos en leche cruda según municipio (Datos expresados como media \pm SEM).

Tomando como referencia el punto de acopio; Cumaral reporta para la Σ HAPs de 2 y 3 anillos un valor de 5.71 ± 1.42 ng/g de leche y la de Guamal 5.26 ± 1.37 ng/g de leche; para la Σ HAPs 4 anillos los valores fueron de 3.22 ± 1.01 y 1.67 ± 0.33

ng/g de leche, respectivamente. La Σ HAPs de 5 y 6 anillos fue de 0.25 ± 0.06 y 0.25 ± 0.03 ng/g de leche para Cumaral y Guamal, respectivamente, observándose la misma tendencia en los tres grupos de HAPs evaluados siendo el área de Cumaral la que reporta los mayores valores sin diferencias significativas en todos los casos ($p < 0.05$), a pesar de representar casi el doble en comparación con el de Guamal. (Figura 10).

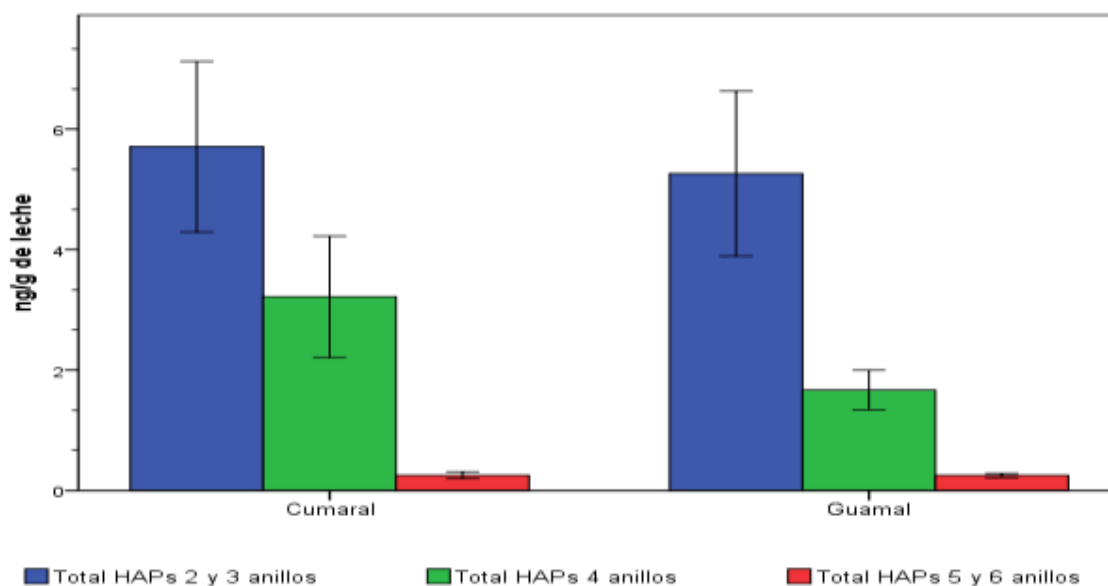


Figura 10. Concentración Niveles de Σ HAPs 2 y 3 anillos, Σ HAPs 4 anillos, Σ HAPs 5 y 6 anillos en leche cruda según punto de acopio (Datos expresados como media \pm SEM).

En la figura 11 se observan los resultados según la época del año, establecidas de acuerdo al nivel de precipitación donde las épocas de aguas ascendentes y descendentes y de mayor y menor precipitación conocidas como invierno y verano, no existiendo diferencias significativas ($p < 0.05$), con valores de 7.61 ± 1.99 , 3.24 ± 1.48 , 4.22 ± 2.00 , 6.30 ± 2.43 ng/g de leche, respectivamente para la Σ HAPs 2 y 3 anillos. Para la Σ HAPs 4 anillos la época de aguas descendentes presentó el mayor valor siendo de 3.05 ± 1.55 ng/g de leche y el menor valor se

presentó en la época de verano con 1.53 ± 0.588 ng/g de leche. La Σ HAPs de 5 y 6 anillos para aguas ascendentes fue de 0.35 ± 0.06 ng/g de leche, verano de 0.25 ± 0.063 ng/g de leche, invierno 0.22 ± 0.05 ng/g de leche y aguas descendentes 0.17 ± 0.05 ng/g de leche, sin diferencias significativas ($p > 0.05$) para ninguno de los grupos de HAPs detectados. Igualmente, el análisis de varianza y comparación de medias de manera individual y agrupada según el número de anillos, no arrojaron diferencias significativas (Anexo 7).

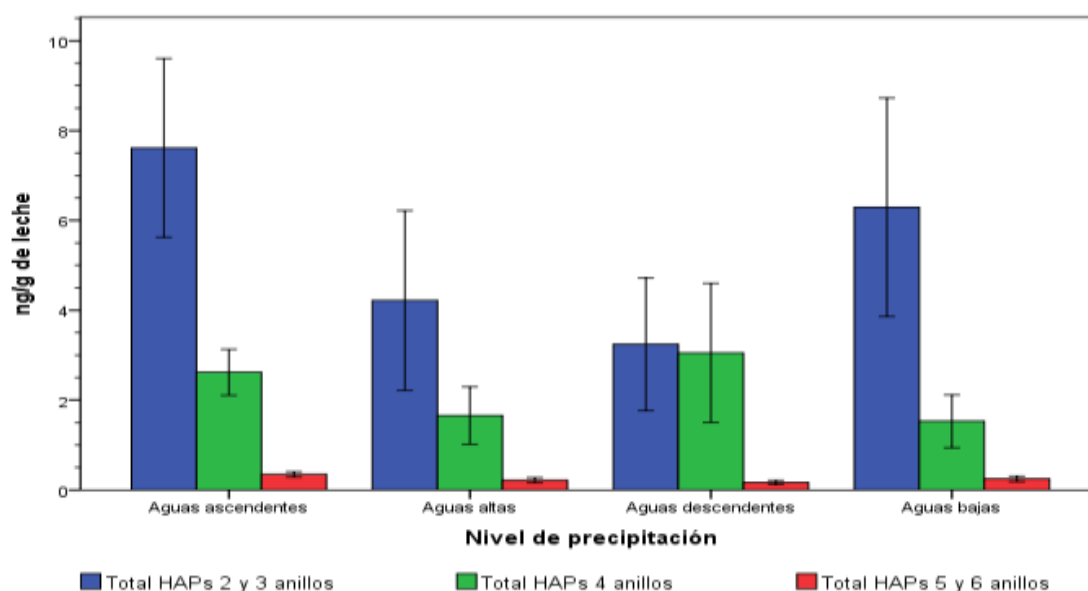


Figura 11. Concentración de Σ HAPs 2 y 3 anillos, Σ HAPs 4 anillos, Σ HAPs 5 y 6 anillos en leche cruda según época del año (Datos expresados como media \pm SEM).

Adicionalmente se evaluó el año de muestreo para un total de 31 muestras en el año 2014 y 13 para el 2015 (Figura 12), con valores para Σ HAPs de 2 y 3 anillos de 4.51 ± 1.14 , y 7.61 ± 1.99 ng/g de leche, respectivamente y de 2.07 ± 0.58 y 2.62 ± 0.51 ng/g de leche, para Σ HAPs de 4 anillos en el año 2014 y 2015, respectivamente. La Σ HAPs de 5 y 6 anillos para el año 2014 fue de 0.21 ± 0.03

ng/g de leche y 0.35 ± 0.06 ng/g de leche para el año 2015, existiendo para éste grupo diferencia significativa ($p < 0.05$). Se observó que los niveles de HAPs para el año 2015 fue mayor para (Σ HAPs 2 y 3 anillos= 7.61 ± 1.99 ng/g de leche y para Σ HAPs 4 anillos= 2.62 ± 0.51 ng/g de leche), situación que concuerda con las épocas de verano y aguas ascendentes que mostraron los niveles más altos para todos los HAPs (Anexo 8).

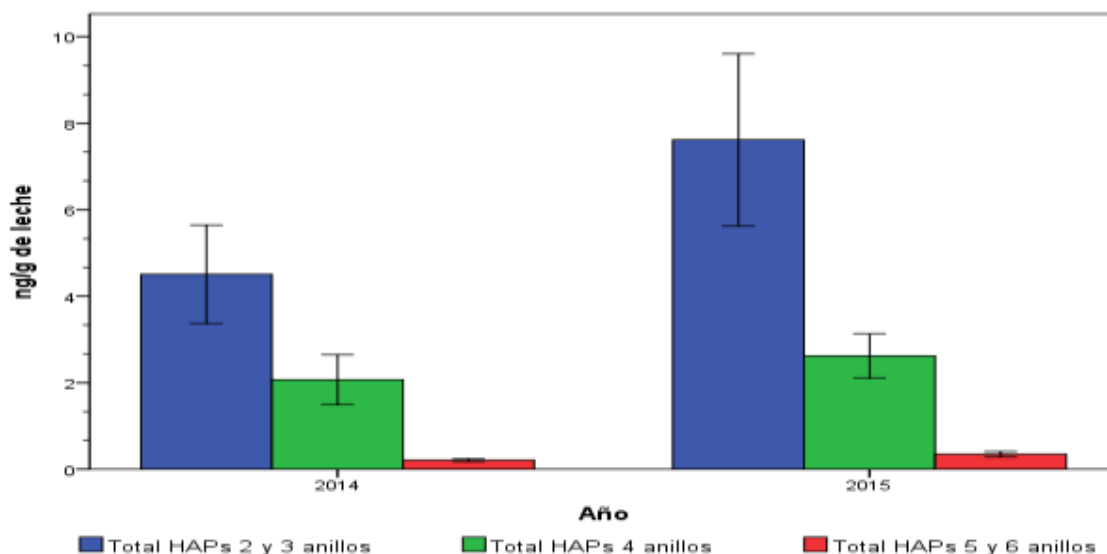


Figura 12. Concentración de Σ HAPs 2 y 3 anillos, Σ HAPs 4 anillos, Σ HAPs 5 y 6 anillos en leche cruda según año de muestreo (Datos expresados como media \pm SEM).

En referencia a la correlación entre los HAPs vs las características físico-químicas, fueron negativas para los HAPs BjFA, BbFA, BkFA y el IcdP con la acidez de la leche en un porcentaje del 10 al 12% y negativas para los mismos HAPs con respecto al pH ($p > 0.05$). Para la variable grasa se muestran correlaciones negativas entre 11 al 14% para los HAPs BjFA, BbFA, BkFA y 5-MCH, así como correlación negativa con la densidad del 18 y el 23%, entre densidad, proteína,

SNG, ST fueron superiores al 50%, siendo del 96.1% entre la densidad y los SNG, y del 85.3% entre la grasa y los ST (Anexo 9).

Al evaluar las correlaciones entre los HAPs, se observa que todas las correlaciones son positivas en porcentajes que van desde el 6 al 99.9%; a excepción de las correlaciones negativas entre el HAP CCP y el NA, PHE, A y el BaA, siendo de destacar la correlación entre el CPP con el naftaleno de -10.9% (Anexo 9).

Las correlaciones más altas se presentaron entre los HAPs BbFA con el BkFA, BjFA del 99.9% y entre el AN y el PHE del 99.8%, correlaciones superiores al 80% se dieron entre el NA y el FL 85.4%, entre CHR y FA del 82.2%, entre el FL y el PHE y el BkFA y el IcdP del 80.3% y las correlaciones menores se presentaron entre el BaA con AN (85%), PHE (84.7%), BkFA (81%), BbFA (80.6%), BjFA (80.2%).

Con el fin de identificar las posibles fuentes de contaminación por HAPs detectados en la leche, se utilizó la metodología de relaciones entre HAPs, que se definieron por el nivel de correlación entre los HAPs detectados. Teniendo en cuenta las correlaciones encontradas de los HAPs en el presente estudio se determinó la utilización de los ratios diagnósticos entre el AN y el PHE (99.8%) y entre el FA y el PY (72.4%) con nivel de significancia $p < 0.01$), según los municipios evaluados, resultados presentados en la Tabla 9, adicionalmente se aplicaron las relaciones FA/FA+PY, AN/AN+PHE y BaA/BaA+CHR, según la época del año, encontrándose que para las épocas de invierno y aguas descendentes las fuentes de los HAPs pueden ser petrogénicas y pirogénica y para las épocas de verano y aguas ascendentes adicionales a las anteriores pueden los HAPs originarse a partir de la combustión de la hierba, el carbón y la madera (Anexo 10).

Tabla 9. Ratios diagnósticos según niveles de HAPs detectados en leche cruda en los municipios del Departamento del Meta

Municipio	AN/(AN+PHE)	FA/(FA+ PYR)	Posible Fuente
San Martín de los Llanos	0.66	0.21	Pirogénica/ Petrogénica
Castilla La Nueva	0.64	0.50	Pirogénica/ Combustión gasolina
Acacias	0.64	0.25	Pirogénica/ Petrogénica
Guamal	0.64	0.63	Pirogénica/ Combustión madera
Medina	0.71	0.22	Pirogénica/ Petrogénica
Cumaral	0.62	0.75	Pirogénica/Combustión madera

AN: Antraceno, PHE: Fenantreno, FA: Fluoranteno, PYR: Pireno

6. DISCUSIÓN

6.1. CARACTERÍSTICAS COMPOSICIONALES DE LA LECHE

Los valores para todas las características evaluadas se encontraron dentro de los rangos establecidos por la normatividad sanitaria colombiana (MADR, 2006) y de estas la proteína, grasa y los sólidos totales están definidas como variables para calcular el pago de leche por calidad composicional, donde además se integran otras variables como la calidad higiénica de la leche, el estatus sanitario del hato, el transporte de la leche y las bonificaciones voluntarias (MADR, 2012). El departamento del Meta, se encuentra dentro de la zona 2 definida por el Ministerio de Agricultura y el valor promedio para lo corrido del año 2018 por litro de leche fue de \$1020 (ASOLECHE, 2018).

El porcentaje de proteína establecido para Colombia es de 2.9%, similar a lo exigido en Ecuador, Venezuela y México (2.9% a 3%); para sólidos totales este

valor no es incluido en las normas de Uruguay y México, y para Colombia es de 11.3%, acorde a la norma de Ecuador (11.2%) y la norma andina (11.4%). Para el contenido de grasa la norma uruguaya hace una diferencia según la época del año siendo el valor mínimo de 2.9% para parte del otoño y el invierno y no menor a 2.7% para las épocas de primavera y verano, valores inferiores al establecido para Colombia, Ecuador y México de 3% (COVENIN, 1993; INEN, 2015; MSP, 1994; SCFI, 2003).

Con relación a la acidez titulable es una característica que en el presente estudio no presentó variaciones (0.139), que podría explicarse en razón a que es determinante como criterio de aceptación de la leche en el centro de acopio, lo que da como resultado que leches con un nivel de acidez mayor a este valor podrían ser rechazadas. Al comparar los valores normativos con la norma de la comunidad económica europea (CEE., 1992), la norma europea prioriza las características microbiológicas y de inocuidad sobre las variables composicionales probablemente dadas por las exigencias a nivel de la producción y orientadas a los productos terminados.

Los resultados de las correlaciones entre las características físico químicas, comprueba la dependencia de éstas variables en razón a la concentración de sólidos y a la influencia proteína y grasa que determinan la calidad de la leche en términos de los sólidos disueltos en la leche. Para el caso de la densidad está determinada por la masa de diferentes componentes de los que forma parte los sólidos no grasos, susceptible de adulteraciones en busca de modificar o afectar ésta característica (Alais, 2003)

Los valores encontrados para la acidez titulable (0.139 ± 0.001), son inferiores a los reportados por Calderón et al. (2012) para leches producidas bajo el sistema bovino de doble propósito en Montería (0.17) tomadas en tanques refrigerados (Calderón *et al.*, 2012) y del valor encontrado para la misma ciudad en leches destinadas al procesamiento de queso con valor de 0.19 (Calderón *et al.*, 2007) estando fuera del rango normativo de Colombia y atribuidos a la falta de

refrigeración de la leche, al almacenamiento en materiales no apropiados y a las altas temperaturas de la zona. El resultado del presente trabajo para la variable acidez (0.14) permite suponer una mejor calidad de la leche podría estar asociada a mejores condiciones de ordeño, de transporte (cantinas metálicas y tanques isotérmicos), de filtrado y de almacenamiento de la leche cruda en los puntos de enfriamiento comparado con otras regiones de Colombia.

En referencia a los valores del índice crioscópico (-0.533 ± 0.001) son mayores a los encontrados en leches recolectadas en centros de acopio y queseras artesanales de una provincia de Ecuador, donde este valor más bajo se asoció al uso de adulterantes y específicamente a la adición de agua (De la Cruz *et al.*, 2018), al igual que los reportados para la región caribe colombiana inferiores a -0.405 (Grandos Conde *et al.*, 2012). Estos valores concuerdan con lo reportado para Argentina donde se observó un descenso en el índice crioscópico con tendencia a estabilizarse con valores entre -0.528 y -0.523 logrado por la implementación de medidas correctivas en el procedimiento del lavado de las máquinas de ordeño, los equipos de frío, mantenimiento de las placas de enfriamiento, encaminadas a evitar dejar restos de agua en el circuito de lavado (Revelli *et al.*, 2011). Para el caso de la leche muestreada en el departamento del Meta se puede afirmar que no se evidencia adulteración de la leche por adición de agua, ya que el índice crioscópico es uno de los indicadores para identificar esta práctica en esta fracción de la cadena desde la producción hasta el punto de enfriamiento de la leche.

De otra parte, teniendo en cuenta la procedencia de la leche según las rutas de recolección los valores de pH (6.4 a 6.8), son menores a los reportados en México (6.8 a 7.5) para leches provenientes de pequeños sistemas de producción (Bravo *et al.*, 2014) y superiores a los encontrados para Venezuela (6.0 a 6.6) de leches destinadas a la industria (Arias *et al.*, 2017). Los valores más altos de pH se observan en la leche de los silos de almacenamiento (Tabla 6), lo que puede atribuirse a la modificación de las características de la leche enfriada, ya que el frío

puede producir la disociación del complejo citrato cálcico y formar un complejo insoluble de fosfato cálcico que produce un aumento del pH (Alais, 2003), de igual manera, se debe tener en cuenta la existencia en el silo de almacenamiento de leches del día anterior y del día de muestreo que no fueron evaluadas en el momento de la toma de la muestra de leche enfriada por provenir de rutas con volumen bajos, pero que pueden estar influyendo en el valor final del pH, aclarando que son sujetas de control por la empresa compradora de leche.

Los valores para la densidad (Tabla 7), mostraron diferencia significativa ($p < 0.05$) entre la leche del silo de almacenamiento de Guamal-Meta (1031.31 ± 0.18 g/ml) y los otros municipios evaluados, a excepción del resultado para el municipio de Guamal (1031.80 ± 0.08). En general el valor de la media para la zona de estudio del departamento del Meta fue mayor al reportado para el Departamento de Boyacá (1029.36 ± 0.61 g/ml), en leche de vacas Holstein que buscaba evaluar el efecto sobre los componentes grasa, proteína y sólidos totales al suministrar grasa protegida en diferentes niveles en la dieta (Rodriguez y Gómez, 2013) y para dos regiones del Estado de México donde variaron de 1029.7 a 1030.7 g/mL, que a pesar de estar dentro de los establecidos en la norma mexicana, se encontró correlación entre el porcentaje de adición de agua y la densidad siendo negativa y significativa, al igual que con el contenido de grasa (Bernal Martínez *et al.*, 2007); sin embargo, en éste caso no se presentó, ya que la densidad para las muestras de Guamal y silo Guamal (más bajas) no coinciden con valores altos de grasa. Igualmente, las diferencias ($p < 0.05$) entre la leche proveniente del municipio de Guamal vs los municipios de Cumaral, Medina y el silo Cumaral pueden estar asociadas a condiciones que no se evaluaron en el presente estudio como el tipo racial, el tipo de alimentación, número de lactancia y días de lactancia.

Respecto al valor para la grasa no presentó diferencias significativas ($p > 0.05$), según el municipio de origen de la leche, siendo los valores inferiores a 3.4%, y las leches tomadas de los municipios de Acacias y Restrepo presentaron los valores más altos, estos valores podrían determinar que en los sistemas de producción

pueden presentar similares prácticas y que la grasa no es influenciada por otros factores, como lo reportado en estudios que evaluaron factores genéticos de los animales (Echeverri Zuluaga *et al.*, 2010), por la alimentación en cuanto a su composición (Castro-Hernández *et al.*, 2014; Cruz Carrillo *et al.*, 2017) u oferta suministrada (Correa *et al.*, 2012), siendo similares a los valores reportados en este estudio.

Las variables composicionales de proteína, ST y SNG, presentaron diferencias significativas entre los municipios, coincidiendo para las muestras del silo Guamal y las leches provenientes de otras rutas y del silo Cumaral. En relación a la proteína el promedio de este estudio fue de $3.21 \pm 0.05\%$, similar al reportado para Montería-Colombia (3.28%) (Calderón *et al.*, 2012) y menor que el encontrado para la región del departamento del Caquetá, donde se compararon el pastoreo convencional y el silvopastoril (Rivera *et al.*, 2015) (Martínez-Borraz *et al.*, 2010), para la región noroeste de Colombia (3,43%) (Jiménez Suárez *et al.*, 2016) y para Irlanda (3,6%) (Paludetti *et al.*, 2018). En contraste fue mayor que el reportado para las regiones occidente y oriente de la sabana de Bogotá (2,71%) (Morales *et al.*, 2013).

Específicamente, el porcentaje de proteína para la leche del silo Guamal es el más bajo de los sitios muestreados ($3.16 \pm 0,01 \%$) existiendo diferencia significativa con los valores de Medina y Silo Cumaral ($3.24 \pm 0.01 \%$). Estudios realizados en Ecuador reportan valores de 2.9 a 3.2%, concluyendo que el nivel de proteína es una variable que no fue influida por el porcentaje de proteína de las pasturas pero que si existe una relación inversa entre el nivel de proteína en la leche y el nitrógeno ureico en leche (Bonifaz y Gutiérrez, 2013), es de anotar que el nitrógeno ureico en leche (MUN) está asociado al balance en la dieta de la proteína y la energía y por lo tanto debe ser considerada al evaluar la calidad de la leche al ser variable que brinda información de las condiciones de producción, reproducción y de bienestar de los animales.

El valor promedio para los SNG fue de $8.82 \pm 0.01\%$ (Tabla 9), este valor es mayor a los reportados para Boyacá al utilizar dietas adicionadas con grasa protegida ($8.24 \pm 0.44\%$) y a lo reportado para varios municipios de Bolívar (8.75%) (Grandos Conde *et al.*, 2012). Valores menores se reportan para Venezuela en ganado criollo Limonero suplementado 8.97 ± 0.50 con concentrado y 8.98 ± 0.32 suplementado con harina de frutos de samán más melaza de caña de azúcar), sin diferencias y sin efecto sobre el nivel de los ST (13.83 ± 0.6 y 13.76 ± 0.45) (Pirela *et al.*, 2010), no obstante, esto difiere con lo encontrado para la zona de la sabana de Bogotá donde el porcentaje de sólidos totales fue afectado significativamente por el tipo de pasto establecido para el pastoreo (Morales *et al.*, 2013). De manera general, el valor de los SNG determinado de 8.8% permite catalogar estas leches como excelentes al compararlo con leches provenientes lechería especializada.

El valor de ST para el departamento del Meta de las muestras analizadas fue de 12.11% (Tabla 5) lo que refleja una homogeneidad en ésta característica para el área muestreada; es de anotar que niveles por debajo de 12% en esta características son indicadores de problemas de mastitis (Calderón *et al.*, 2012) lo que revela una buena condición de los animales de la región muestreada y donde probablemente prácticas como la adición de adulterantes como agua no son comunes (Bravo *et al.*, 2014), es de notar igualmente que valores superiores se han relacionado con volúmenes bajos de producción por vaca (Cervantes Escoto *et al.*, 2013); condición que sería importante estudiar en la región.

Teniendo en cuenta la época del año según el nivel de precipitación, las variables temperatura, pH, grasa, proteína, ST e IC presentaron diferencias significativas siendo los valores más altos en la época de aguas descendentes para los componentes grasa, proteína, SNG y ST. Esto puede asociarse a la disponibilidad de alimento de las pasturas y a la condición de menor estrés por temperatura ambiente que incide sobre la capacidad de alimentación de los animales siendo congruente con los buenos porcentajes encontrados para la época de mayor

precipitación en éste estudio y que concuerda con lo reportado para el departamento de Sucre, donde los mejores índices en grasa, proteína y sólidos totales se reportan en época de invierno (Martínez y Gómez, 2013), como en el departamento de Córdoba para los valores de SNG y ST (Rodríguez *et al.*, 2015). Así mismo, en la región del trópico húmedo de México estas características según época del año la época lluviosa (mayo-octubre) y nortes (noviembre-enero), los ST presentaron los mayores valores con diferencias significativas (Quiroz-Valiente *et al.*, 2016). Por su parte en ciudad de México los porcentajes más altos de proteína fueron en época lluviosa y en invierno, en éste caso atribuidos a un aumento en los índices de mastitis en estas épocas (Álvarez-Fuentes *et al.*, 2012).

En cuanto al lugar de acopio se observaron diferencias significativas entre los dos puntos para los componentes pH, densidad, proteína, SNG y ST, siendo más altos para el sitio de Cumaral. Este acopio recibe leche de un municipio de Cundinamarca con condiciones similares como es la ubicación en zona de piedemonte, sistema de ordeño manual, composición racial de los animales hacia el doble propósito y otras diferenciales la altitud y la temperatura ambiente más baja que los otros municipios del Meta; es de anotar que al comparar los valores de estas características según su origen la ruta de Medina fue la que presentó los valores mayores en esos componentes y si bien su volumen no presentan diferencia significativa con las demás rutas, pudo haber influido de manera significativa en la composición final de la leche colectada.

Diversos estudios realizados sobre el efecto de contaminantes químicos de la leche sobre sus características físico químicas han sido evaluadas para medir su efecto sobre una condición predeterminada como por ejemplo el uso de productos con capacidad anti-microbial como el peróxido de hidrógeno ó dióxido de cloro que inciden de forma directa sobre las características de pH y acidez de la leche pero no sobre la composición de la misma (Arias *et al.*, 2017; Nieto Cevallos, 2004).

En cuanto a la influencia de los contaminantes químicos sobre las características físicas y químicas puede existir una asociación entre la presencia de metales

pesados como el plomo, cadmio, cobre y zinc que podrían afectar el pH de las matrices que los contienen, dada su naturaleza (Coroian *et al.*, 2017), sin embargo, no hay claridad en su mecanismo pero se menciona que están relacionados con cambios que pueden afectar por ejemplo la absorción de minerales pero no directamente en los porcentajes de sus componentes.

6.2. HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN LA LECHE CRUDA

No son muchos los estudios realizados para la detección de HAPs en leche cruda bovina y a nivel de Colombia solamente se ha reportado para el Piedemonte Llanero la detección de AN y BaA en el 28 y 10% de las fincas evaluadas (n=50), respectivamente, con un valor total de HAPs de 0,16 µg/kg de leche mediante la técnica de cromatografía líquida de alta precisión (HPLC) (Parra *et al.*, 2015). Por lo tanto, a pesar de la importancia que actualmente reviste el estudio de contaminantes químicos asociados a matrices tanto ambientales como en alimentos, dado el riesgo para la salud humana que pueden representar, este estudio corresponde a uno de los primeros realizados a la fecha, siendo los referentes de comparación tomados de otros países, resaltando que pocos reportan la detección de los 16 HAPs considerados prioritarios.

El valor total de HAPs detectados en el presente estudio fue de 7.907 ± 1.122 ng/g de leche cruda con un rango de 0.028 a 29.751 ng/g de leche (Anexo 2), este valor es mayor al reportado para la zona de Calabria, Italia donde se encontró una concentración de 5.43 ng/g de leche para un total de 8 HAPs detectados (Naccari *et al.*, 2011), a lo reportado para México de 2.06 ± 2.83 , 1.65 ± 2.14 y 1.24 ± 1.28 µg/g de leche para los años 2008, 2009 y 2010, respectivamente (Gutiérrez *et al.*, 2015), y menor a lo reportado para leche cruda en el mismo país donde el valor detectado fue de 15.45 ± 0.53 µg/kg de leche utilizando HPLC asociada a Fluorescencia directa con detección de siete HAPs, donde seis fueron de bajo peso molecular y únicamente el BaP de alto peso molecular (Girelli *et al.*, 2014).

En este estudio, Los HAPs detectados con mayores niveles fueron el Antraceno (2.986 ± 0.520 ng/g de leche) y el fenantreno (1.681 ± 0.297 ng/g de leche) el encontrado en menor concentración fue el 5MCH (0.026 ± 0.005 ng/g de leche), siendo detectados HAPs de bajo y alto peso molecular. Esto demuestra que la leche es susceptible de contaminación con productos persistentes en el medio ambiente que pueden ingresar al animal, ser excretados por la leche y ser fuente de HAPs para el ser humano.

En cuanto al antraceno, fenantreno y pireno cuyos niveles en las muestras de leche fueron de: 2.986 ± 0.520 , 1.681 ± 0.297 y 1.010 ± 0.247 ng/g de leche respectivamente, son mayores a los reportados para Italia, donde el valor detectado para los mismos HAPs fue de 1.425 ± 0.007 , 1.296 ± 0.297 y 1.072 ± 0.004 ng/g de leche, respectivamente (Naccari *et al.*, 2011), al igual que lo reportado para leche cruda en Taiwán, con valores para el fenantreno de 0.021 a 0.069 ng/g de leche, para el antraceno de 0,0016 ng/g de leche y para el pireno hasta 0.12 ng/g de leche (Chung *et al.*, 2010) siendo menores que los reportados para Francia al evaluar la transferencia de HAPs a la leche tras la administración oral donde detectaron el fenantreno (2.8 a 5.1 ng/mL de leche) y el pireno (1.4 a 3.1 ng/mL de leche), valores que mostraron aumento en el tiempo después de la administración oral (Lutz *et al.*, 2006), lo que demuestra que en rumiantes los HAPs son eliminados a través de la leche y que una vía de contaminación para los animales la constituye la vía oral y la ingestión ocasional de suelos contaminados con HAPs, que concuerdan con estudios realizados en leche materna donde el fenantreno, fluoranteno, pireno y fluoreno, fueron los HAPs reportados en las concentraciones más altas en unidades de ng/g de grasa (Pulkrabova *et al.*, 2016), que se explicaría para el fenantreno y el pireno por la relación inversa entre el peso molecular y su capacidad de atravesar el epitelio mamario (Cavret *et al.*, 2005) y que a pesar de no estar clasificados como carcinogénicos para los humanos, no deben descartarse efectos como disruptores endocrinos, ya que se pueden desconocer los límites sin efecto y los mismos ante dosis bajas y altas que

lleven a interferir el sistema hormonal mediante suplantación de hormonas naturales o bloqueando su acción (Andrade-Ribeiro *et al.*, 2006).

Igualmente la presencia de HAPs en las muestras de leche podrían ser indicadores de diversas fuentes de contaminación y para el caso de los de bajo peso molecular asociarse a fuentes petrogénicas, al estar presentes en mayores concentraciones que los de alto peso molecular; sin embargo, la detección de 17 de los 23 HAPs incluidos para la determinación refleja además otras fuentes adicionales o relación entre fuentes petrogénicas y pirogénicas que muestra las ventajas de la utilización de la técnica de análisis de cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas/masas, así como la detección en volúmenes mucho mayores como los de los silos de almacenamiento de la leche enfriada, no evidenciando diferencia significativa ante ésta condición.

Teniendo como criterio el HAP categorizado como carcinogénico y del cual se referencian los niveles considerados de riesgo para la salud humana, en las muestras de leche cruda analizadas el valor de la media para el BaP fue de 0.07 ± 0.02 ng/g con un rango entre 0.015 y 0.45 ng/g de leche (Anexo 1) siendo menor que el reportado para Italia 0.270 ± 0.017 (Naccari *et al.*, 2011) y mayor al valor máximo de 0,012 ng/g de leche para leche en Taiwán (Chung *et al.*, 2010); igualmente este valor es menor al contenido máximo establecido para preparados infantiles de 1 µg/kg de alimento, lo que determinaría un nivel de riesgo bajo de consumo de leche para las muestras analizadas.

El comportamiento de los HAPs para todas las variables independientes evaluadas como municipio, época, lugar de acopio y año presentaron la misma tendencia siendo los HAPs de 2 y 3 anillos los que están presente en mayor concentración, seguido de los HAPs de 4 anillos y finalizando con los HAPs de 5 y 6 anillos, que concuerdan con lo reportado en leches comerciales en Italia, siendo el PHE, FA, PY y FL los HAPs presentes en mayor concentración tanto en leches pasteurizadas como UHT entera y semi descremada con relación a la leche cruda (Girelli *et al.*, 2014); además se evidencia que el aporte de los HAPs de 2 a 4

anillos al total de HAPs detectados es del 91%, superior a lo reportado para leche humana (70,1%) que para el fenantreno, se asocia a la capacidad de transporte a través de las células mamarias e indicando transferencia de los alimentos a la leche humana (Wang *et al.*, 2018).

Los HAPs de 2 y 3 anillos, considerados más volátiles se encontraron en mayor concentración, no están clasificados como de riesgo por sus efectos carcinogénicos; sin embargo, no puede descartarse otros efectos como la presentación de enfermedades atípicas inmunomediadas (Liu *et al.*, 2013), efecto sobre la morfología del tejido nervioso en larvas de peces (Sugahara *et al.*, 2014) y efectos a nivel reproductivo (De Campos *et al.*, 2018), que pueden llegar al organismo de los bovinos y que por su capacidad de acumulación en especial en los lípidos, constituyen un riesgo para el ser humano.

Estos resultados muestran que la excreción láctea es una de las vías de eliminación en mayor proporción para los HAPs de bajo peso molecular, es necesario además incluir en las investigaciones la determinación de los biomarcadores hidroxilados, por ser mecanismos bioquímicos adoptados por los animales para la biotransformación de estos contaminantes en rumiantes (Lapole *et al.*, 2007), también se requiere en la región del departamento del Meta realizar estudios que permitan identificar la presencia de los HAPs en las diferentes matrices ambientales como aire, agua, sedimentos, suelos, e incluso de los alimentos de consumo animal.

Las concentraciones de HAPs por municipio sin ser significativas ($p < 0.05$) muestran que en el departamento del Meta existen diferentes fuentes de HAPs tanto de origen petrogénico como pirolítico; igualmente podría suponerse como fuente las emisiones generadas por la combustión de carbón, biocombustibles y el tráfico vehicular, que en estudios realizados en la detección de HAPs en leche materna, han sido asociados con la presencia de HAPs de 5 y 6 anillos (Santonicola *et al.*, 2017).

A pesar de no existir diferencia significativa entre los puntos de acopio para ninguno de los grupos de HAPs, los niveles mayores en el grupo de 4 anillos han sido asociados a posibles fuentes industriales (Gutiérrez *et al.*, 2015), en la región donde está ubicado el municipio de Cumaral existe agroindustria de la palma de aceite y además predomina la vocación ganadera que presenta cifras estables en referencia al número de bovinos y número de predios en el municipio para los último 8 años (162.300 bovinos y 818 fincas (ICA, 2018); sin embargo, es necesario mencionar que al acopio del área de Cumaral proviene leche de Medina, municipio del departamento de Cundinamarca, donde se evidencia una alta presencia de HAPs de 4 anillos comparado con los demás municipios, lo que puede ser atribuido a un proceso ambiental donde podría estar la deforestación, quemas para reconversión del territorio hacia la vocación ganadera y agrícola esto reflejado por el aumento en el período 2014-2018 del número de bovinos y fincas en el municipio que pasó de 49.000 bovinos a 56. 618 y de 800 a 1244 fincas (ICA, 2018); siendo el de más alto crecimiento en el indicador de número de fincas. Es de mencionar que éste municipio en su caracterización de riesgos incluye los incendios forestales, dados por las condiciones de sequía del municipio y la intervención del hombre y que por efectos del viento que hace difícil su control (CMGRD, 2012).

Al evaluar las épocas según el nivel de precipitación, se evidenció que los mayores niveles de HAPs se reportan para la época de aguas ascendentes en el grupo de HAPs de 2 y 3 anillos (7.613 ± 1.993 ng/g de leche) y para HAPs de 4 anillos (2.619 ± 0.512 ng/g de leche), situación que puede estar asociada a prácticas de manejo adoptadas por los productores en época de menor precipitación y de lluvias ascendentes como son las quemas para preparación de lotes y establecimiento praderas sumado a los incendios forestales que se presentan en especial en la época de menor precipitación, que producto de la combustión son emitidos al medio ambiente en su fase gaseosa y se distribuyen en grandes áreas, son transportados a grandes distancias y por efecto de la temperatura y reacciones fotoquímicas pueden ser transformados en otros

contaminantes (Mastral *et al.*, 2000), estos resultados concuerdan con lo reportado para diferentes congéneres de PCB pero con características similares a los HAPs, donde no existió diferencias significativas entre épocas (Jesús Pérez *et al.*, 2012), igualmente se reporta una mayor presencia de HAPs de bajo peso molecular en el aire durante la época de invierno asociada al uso de equipos de calefacción (Cetin *et al.*, 2018); sin embargo es de anotar que Colombia es un país tropical y que la región de la Orinoquía donde se encuentra el departamento del Meta es una de las más lluviosas y que a pesar de contar con épocas de mayor y menor precipitación y carecer de estaciones podría considerarse una región con características medio ambientales por evaluar su efecto sobre comportamiento de los HAPs en las diferentes matrices como aire, agua y suelo.

El grupo de HAPs de 5 y 6 anillos son considerados con insuficiente evidencia de efectos carcinogénicos, pero se han observado efectos a nivel reproductivo del BbFA en la descendencia de ratones machos por ingestión oral de las madres de 2 y 2000 $\mu\text{g/kg}$ de peso corporal (Kim *et al.*, 2011), lo que no descarta efectos similares en los rumiantes ante su presencia en leche.

Los HAPs de 5 y 6 anillos que se detectaron en las muestras de leche analizadas corresponden al BaP e IcdP de alto peso molecular, con niveles promedio para las 44 muestras de $0,067 \pm 0,19$ ng/g de leche y de 0.047 ± 0.08 ng/g de leche respectivamente, el valor para el BaP es menor (0.270 ± 0.017 ng/g de leche) al reportado para Italia donde el IcdP no fue detectado en las muestras de leche cruda analizadas (Naccari *et al.*, 2011). La detección de éstos dos HAPs de 5 y 6 anillos en la leche demuestra que HAPs menos polares también son eliminados en la leche y que además pueden continuar en el organismo humano y bioacumularse a nivel de tejidos como el hígado, riñones y tejido graso (Moon *et al.*, 2012), aunque al no existir reportes de niveles en compartimentos como el aire o el agua a nivel regional no permiten establecer niveles de interrelaciones con su presencia en el medio ambiente, y podría suponerse que esos resultados de estudios en humanos se presentan también en bovinos.

Como era de esperar las variables grasa y sólidos totales se encuentran relacionadas con un porcentaje superior al 80% (ICONTEC., 2004), esto refleja que la composición de las leches analizadas en este estudio, en estas dos variables alcanzan los valores definidos en el decreto 616 de 2006, para la región aumentar los valores de estos indicadores generan mejores precios y ganancia para los productores; sin embargo el identificar la presencia de contaminantes químicos como los HAPs en la leche determinan la necesidad de realizar estudios y conocer la dinámica de los niveles de contaminantes y definir políticas de salud pública para establecer los niveles de riesgo ante el consumo de leche.

Las correlaciones entre AN/PHE y NA/FL, no mostraron diferencias significativas ($p>0.05$); sin embargo no se descarta la asociación entre la presencia de compuestos químicos y su efecto sobre las características composicionales de la leche y especialmente en aquellas asociadas a factores químicos como la acidez y el pH, además de otros componentes por los efectos metabólicos en diferentes organismos de los HAPs, como los reportados en humanos que revelaron efectos sobre la glucosa y homeóstasis metabólica (Hu *et al.*, 2015) y afectar características de la leche.

Las relaciones entre HAPs pueden explicarse por el número de anillos, para el primer grupo de 5 y en el caso del AN y PHE de 3 anillos además de su peso molecular (252 y 178 respectivamente), condiciones que definen sus características de volatilidad, adsorción, absorción, biotransformación y eliminación. Resultados similares se reportan en leche humana entre los HAPs de 2-4 anillos ($r>0,7$) y de cada HAP con la \sum 15 HAPs, (Wang *et al.*, 2018).

La interrelación entre HAPs de 3 anillos y de éstos con HAPs de 5 y 6 anillos con un alto nivel de significancia, sugieren la presencia en la región de fuentes tanto de origen petrogénico como pirogénico, además de otras originadas por la combustión como consumo de diésel en la maquinaria agrícola e industrial (Kargar *et al.*, 2017; Katsoyiannis y Breivik, 2014).

El análisis de las relaciones entre los HAPs muestra que no solamente existe una fuente de HAPs para las muestras analizadas y que una de las fuentes principales en la pirogénica; se destacan los municipios de Acacias, Medina y San Martín de los Llanos, donde además de la identificación de la fuente pirogénica se suma la fuente petrogénica que en el caso de los municipios ubicados en el departamento del Meta era de esperarse ya que cuentan con 6 de los 20 pozos petroleros del país y se convierte en el primer productor a nivel nacional. En referencia al municipio de Medina sus mayores niveles de HAPs pueden ser atribuidos a la probabilidad que aunque es un municipio del departamento de Cundinamarca, limita con el municipio de Barranca de Upia del Meta y el departamento del Casanare, donde existe actividad minero energética asociada al petróleo; situación que no se descarta que debido a las propiedades de los HAPs de persistencia en el medio ambiente y capacidad de transporte y adhesión a las partículas del aire y su poder de deposición en el suelo, pasturas y aguas de bebidas, que pueden estar en contacto con los animales y ser eliminados en la leche o de manera directa en lugares distantes de sus fuentes de origen. De manera general, en los municipios evaluados en éste estudio, los resultados indican que las prácticas agropecuarias como la quema de biomasa o su utilización como fuente de combustión, también son una fuente de contaminación del medio ambiente en las áreas rurales y que debe ser caracterizada, al igual que la originada por la nueva industria presente en la zona, identificando los impactos negativos que puedan generarse en la región.

Como herramienta para la determinación de las posibles fuentes y biomonitorio de HAPs se han aplicado los ratios diagnósticos aun siendo pocas las matrices diferentes a sedimentos y aire y en especial a la leche cruda en las que se han utilizado (Benson *et al.*, 2018; Gutiérrez *et al.*, 2015; Kargar *et al.*, 2017); sin embargo, son considerados un método adecuado para la identificación de fuentes de contaminación por HAPs (Cetin *et al.*, 2018; Conte *et al.*, 2016; Tobiszewski y Namieśnik, 2012). Se observa, para el área evaluada en éste estudio, la presencia tanto de fuentes pirogénica como petrogénica y además, por combustión de

vehículos. Se resalta que las muestras del municipio de Medina-Cundinamarca, ubicado en el sector rural hayan presentado niveles promedio altos de HAPs que podrían ser asociados a procesos de reconversión de la vocación productora hacia la ganadería con el respectivo impacto en la deforestación y quemas, como se reporta para el departamento del Meta y Guaviare, entre el 2010 y 2015 con una deforestación estimada de 10576 has de bosque natural atribuida en ese estudio a la intervención humana como la actividad maderera y la explotación de hidrocarburos (Hurtado, 2016) y para el municipio de Medina – Cundinamarca pérdida de 1000 has pastoreables y cultivables y 50 has de bosques naturales para el año 2012, donde se identificó el riesgo por incendios forestales (CMGRD, 2012).

Al evaluar los ratios de diagnóstico según la época de precipitación, incluyendo la relación BaA y CHR (65,2%) se encontró que en todas las épocas existen fuentes comunes de origen de HAPs (petrogénico, pirogénico y combustión de gasolina) , siendo de resaltar para las épocas de verano y aguas ascendentes la identificación como posible fuente la combustión de hierba, carbón y madera que concuerda con la implementación durante éstas épocas de las prácticas agropecuarias para la siembra y mantenimiento de praderas mencionadas anteriormente (Valores mostrados en anexo 10).

7. CONCLUSIONES

Este trabajo es uno de los primeros realizados en Colombia con la finalidad de conocer la presencia de HAPs en leche cruda bovina. Los resultados presentados demuestran la presencia de HAPs en la leche cruda proveniente de granjas productoras de leche del departamento del Meta con niveles que van desde 0,028 hasta 29,751 ng/g de leche cruda para el total de 17 HAPs detectados. Los HAPs detectados en mayor concentración son los del grupo de 2 y 3 anillos, siendo el antraceno y fenantreno los encontrados en mayor concentración, según se muestra en el Anexo 2. Del total de 23 HAPs determinados, seis de ellos

presentaron niveles inferiores al límite de detección mediante la técnica de GC-MS que corresponden al BghiP, DBahA, DBaP, DBaIP, DBaH y DBaE. Los valores promedios para las características composicionales analizadas revelan que los valores se encuentran dentro de los límites aceptados por la normatividad colombiana sanitaria vigente; que de acuerdo a las variables composicionales evaluadas permiten categorizar la calidad de la leche (Calderón *et al.*, 2006) según su densidad (>1.029) y sólidos no grasos (8.4 a 8.7%) como excelente, según la proteína (2.8 a 3.2%) y sólidos totales (11.8 a 12%) como buena y en cuanto a la grasa se requieren estrategias para mejorar su composición en la leche ya que por sus niveles en un rango de 3.3. a 3.5.% se clasifica como regular, pero que de manera general se ajustan a las necesidades del sector industrial para su procesamiento o transformación; aunque en Colombia esta normatividad no incluye los valores máximos para HAPs y otros contaminantes que requieren ser incluidos por su riesgo en salud pública. Teniendo en cuenta la normatividad existente de referencia que establece los niveles máximos para el BaP de $1 \mu\text{g/kg}$ en productos lácteos infantiles procesados y destinados al consumo humano, se observa que los valores encontrados en las muestras de leche analizadas en este estudio ($0.04 \pm 0.03 \text{ ng/g}$), son inferiores a los límites máximos establecidos para estos productos, que aunque no son comparables son el referente para determinar riesgo para el consumo humano, es el único establecido.

Los resultados de la detección en leche cruda bovina para 17 de los 23 HAPs determinados, indican la presencia de diferentes fuentes de HAPs que por su composición sugieren estar asociados a la existencia de explotación petrolera en la región de fuentes petrogénica y pirogénica, donde se encuentra la combustión de biomasa que puede estar relacionada con prácticas agropecuarias inadecuadas y probablemente sumadas a procesos de reconversión del territorio con deforestación seguida de quemas, especialmente en algunos municipios del departamento.

8. RECOMENDACIONES

La presencia de HAPs en las muestras de leche cruda analizadas hace necesario realizar estudios que permitan conocer la composición en otras matrices como agua, aire, sedimentos, alimentos animales, y de manera especial de leches pasteurizadas y derivados lácteos regionales, así como las generadas por la industria en diferentes zonas del departamento del Meta e identificar las principales fuentes de contaminación, dada la poca información existente de la presencia de HAPs en matrices como el aire y agua tanto en Colombia como en el departamento del Meta, que hace necesario emprender acciones que permitan conocer el comportamiento de éstos contaminantes especialmente en la región y su impacto a nivel del medio ambiente, ante la transformación en la vocación productiva, la vinculación de actividades en el campo minero energético y de industrialización regional que aporten a la construcción de políticas públicas y normas de regulación en el tema.

9. BIBLIOGRAFÍA

Acosta N., Castilla Y., Cortes M., Correa D., Oviedo J., Gamboa Y. 2011. Identificación de riesgos químicos asociados al consumo de leche cruda bovina en Colombia. Ministerio de salud y Protección Social. Unidad de Evaluación de Riesgos para la Inocuidad de los Alimentos. 1:

Aguinaga N., Campillo N., Viñas P., Hernández-Córdoba M. 2007. Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in milk and related products using solid-phase microextraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 596: 285-290.

Al-Saleh I., Alsabbahen A., Shinwari N., Billedo G., Mashhour A., Al-Sarraj Y., Mohamed G.E.D., Rabbah A. 2013. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) as determinants of various anthropometric measures of birth outcome. *Science of The Total Environment*. 444: 565-578.

Alais C. 2003. Ciencia de la leche: principios de técnica lechera. Reverté, Barcelona, p.857.

Álvarez-Fuentes G., Herrera-Haro J., Alonso-Bastida G., Barreras-Serrano A. 2012. Calidad de la leche cruda en unidades de producción familiar del sur de Ciudad de México. *Archivos de medicina veterinaria*. 44: 237-242.

Analytics S., 2009, Instrucciones de operación: handylab pH/LF 12, Scoot Instruments

Andrade-Ribeiro A.L., Pacheco-Ferreira A., da Cunha C.L.N., Mendes-Kling A.S. 2006. Disruptores endocrinos: potencial problema para la salud pública y medio ambiente. *Revista Biomédica*. 17: 146-150.

Arellano F.E., Alvarez Gonçalves C.V., Pérez Carrera A.L., Calzetta Resio A.N., Fernandez Cirelli A. 2014. Presencia de elementos traza inorgánicos de importancia nutricional en leche de rumiantes.

Arias Y., Salas E., Romero R. 2017. Efecto del peróxido de hidrógeno en la calidad físico química de la leche cruda de vaca. *Revista Unellez de Ciencia y Tecnología*. 29: 52-57.

ASOLECHE; Precio por litro de leche pagado al productor 2018; 2018; <https://asoleche.org/leche-en-cifras/>

Aydin Y.M., Kara M., Dumanoglu Y., Odabasi M., Elbir T. 2014. Source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in ambient air of an industrial region in Turkey. *Atmospheric Environment*. 97: 271-285.

Benson N.U., Fred-Ahmadu O.H., Olugbuyiro J.A.O., Anake W.U., Adedapo A.E., Olajire A.A. 2018. Concentrations, sources and risk characterisation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in green, herbal and black tea products in Nigeria. *Journal of Food Composition and Analysis*. 66: 13-22.

Bernal Martínez L.R., Rojas Garduño M.d.I.Á., Vázquez Fontes C., Espinoza Ortega A., Estrada Flores J., Castelán Ortega O.A. 2007. Determinación de la calidad fisicoquímica de la leche cruda producida en sistemas campesinos en dos regiones del Estado de México. *Veterinaria México*. 38: 395-407.

Bianchi F., Careri M., Mangia A., Mattarozzi M., Musci M. 2008. Experimental design for the optimization of the extraction conditions of polycyclic aromatic hydrocarbons in milk with a novel diethoxydiphenylsilane solid-phase microextraction fiber. *Journal of Chromatography A*. 1196–1197: 41-45.

Boehm P.D.; 1964; 15 - Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs); Academic Press; Burlington; 313-337.

Boehm P.D.; 2005; 15 - Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs); Academic Press; Burlington; 313-337.

Bonifaz N., Gutiérrez F. 2013. Correlación de niveles de urea en leche con características físico-químicas y composición nutricional de dietas bovinas en ganaderías de la provincia de Pichincha. *La Granja*. 18: 33-42.

Bortey-Sam N., Ikenaka Y., Akoto O., Nakayama S.M.M., Marfo J., Saengtienchai A., Mizukawa H., Ishizuka M. 2016. Excretion of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites (OH-PAHs) in cattle urine in Ghana. *Environmental Pollution*. 218: 331-337.

Brändli R.C., Bucheli T.D., Kupper T., Mayer J., Stadelmann F.X., Tarradellas J. 2007. Fate of PCBs, PAHs and their source characteristic ratios during composting and digestion of source-separated organic waste in full-scale plants. *Environmental Pollution*. 148: 520-528.

Bravo A., Sánchez M., Gutiérrez L., Navarro A., Rincón C. 2014. Aproximación estadística a la calidad de la leche de la Región Mixteca Poblana. *de Cuerpos Académicos*. 55.

Calderón A., Arteaga M.R., Rodríguez V.C., Arrieta G.J., Bermudez D.C., Villareal V.P. 2011. Efecto de la mastitis subclínica sobre el rendimiento en la fabricación del queso costeño. *Biosalud*. 10: 16-27.

Calderón A., García F., Martínez G. 2006. Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia. *Revista MVZ Córdoba*. 11: 725-737.

Calderón A., Rodríguez V., Arrieta G., Martínez N., Vergara O. 2012. Calidad fisicoquímica y microbiológica de leches crudas en empresas ganaderas del sistema doble propósito en Montería (Córdoba). *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*. 15: 399-407.

Calderón R., Rodríguez R., Vélez R. 2007. Evaluación de la calidad de leches en cuatro procesadoras de quesos en el municipio de montería, Colombia. *Revista MVZ Córdoba*. 12: 912-920.

Castro-Hernández H., González-Martínez F.F., Domínguez-Vara I.A., Pinos-Rodríguez J.M., Morales-Almaráz E., Vieyra-Alberto R. 2014. Efecto del nivel de concentrado sobre el perfil de ácidos grasos de la leche de vacas Holstein en pastoreo. *Agrociencia*. 48: 765-775.

Cavret S., Feidt C., Le Roux Y., Laurent F. 2005. Short Communication: Study of Mammary Epithelial Role in Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Transfer to Milk. *Journal of Dairy Science*. 88: 67-70.

CEE.1992, Comunidad Económica Europea, Directiva 92/46/CEE Por la que se establecen las normas sanitarias aplicables a la producción y comercialización de leche cruda, leche tratada térmicamente y productos lácteos. Consejo comunidad económica europea.Europa 43.

Cervantes Escoto F., Cesín Vargas A., Mamani Oño I. 2013. La calidad estándar de la leche en el estado de Hidalgo, México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*. 4: 75-86.

Cetin B., Yurdakul S., Gungormus E., Ozturk F., Sofuoglu S.C. 2018. Source apportionment and carcinogenic risk assessment of passive air sampler-derived PAHs and PCBs in a heavily industrialized region. *Science of The Total Environment*. 633: 30-41.

Claxton L.D. 2014. The history, genotoxicity, and carcinogenicity of carbon-based fuels and their emissions. Part 2: Solid fuels. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. 762: 108-122.

CMGRD, 2012. Consejo Municipal de Gestión del Riesgo y Desastres. Plan Municipal de Gestión del Riesgo de Desastres. Medina-Cundinamarca, 69 p.

Çok I., Mazmanci B., Mazmanci M.A., Turgut C., Henkelmann B., Schramm K.-W. 2012. Analysis of human milk to assess exposure to PAHs, PCBs and organochlorine pesticides in the vicinity Mediterranean city Mersin, Turkey. *Environment International*. 40: 63-69.

Conte F., Copat C., Longo S., Conti G.O., Grasso A., Arena G., Dimartino A., Brundo M.V., Ferrante M. 2016. Polycyclic aromatic hydrocarbons in *Haliotis tuberculata*

(Linnaeus, 1758) (Mollusca, Gastropoda): Considerations on food safety and source investigation. Food and Chemical Toxicology. 94: 57-63.

Coroian A., Miresan V., Cocan D., Raducu C., Longodor A.L., Pop A., Feher G., Andronie L., Marchis Z. 2017. Physical-chemical parameters and the level of heavy metals in cow milk in the Baia Mare area. Banat's Journal of Biotechnology. 8:

Correa H.J., Rodríguez Y., Pabón M., Carulla J.E. 2012. Efecto de la oferta de pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) sobre la producción, la calidad de la leche y el balance de nitrógeno en vacas Holstein. Liv. Res. Rural Dev. 24: 204.

Costera A., Rycken G., Feidt C., Soligot C., Jurjanz S. 2010. Ruminal disappearance of PAHs in contaminated grass using the nylon bag technique. Agronomy for Sustainable Development. 30: 769-775.

COVENIN.1993, Comisión venezolana de normas industriales. Norma 903: Leche cruda. Ministerio de Fomento.Caracas-Venezuela.

Cruz Carrillo A., Lizarazo Cely C.S., Porras Vargas J.L. 2017. Efecto de la suplementación con *Medicago Sativa* (Alfalfa) sobre algunos parámetros de la leche bovina. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. 28: 852-860.

Chahin A., Guivarc'h Y.P., Dziurla M.-A., Toussaint H., Feidt C., Rycken G. 2008. 1-Hydroxypyrene in milk and urine as a bioindicator of polycyclic aromatic hydrocarbon exposure of ruminants. Journal of agricultural and food chemistry. 56: 1780-1786.

Cheftel J.-C., Cheftel H. 1989. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. 334.

Chung T.-L., Liao C.-J., Chen M.-F. 2010. Comparison of liquid-liquid extraction and solid-phase extraction for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in the milk of Taiwan. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers. 41: 178-183.

De Campos M.F., Lo Nostro F.L., Da Cunha R.H., Moreira R.G. 2018. Endocrine disruption of phenanthrene in the protogynous dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Serranidae: Perciformes). General and Comparative Endocrinology. 257: 255-263.

De la Cruz E.G., Díaz P.S., Bonifaz N. 2018. Gestión de calidad de leche de pequeños y medianos ganaderos de centros de acopio y queserías artesanales, para la mejora continua. caso de estudio: Carchi, Ecuador. La Granja: Revista de Ciencias de la Vida. 27: 124-136.

Diggs D.L., Myers J.N., Banks L.D., Niaz M.S., Hood D.B., Roberts Li L.J., Ramesh A. 2013. Influence of dietary fat type on benzo(a)pyrene [B(a)P] biotransformation in a B(a)P-

induced mouse model of colon cancer. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 24: 2051-2063.

Dobrinas S., Soceanu A., Popescu V., Coatu V. 2016. Polycyclic aromatic hydrocarbons and pesticides in milk powder. *Journal of Dairy Research*. 83: 261-265.

Duedahl-Olesen L.; 2013; 13 - Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in foods; Woodhead Publishing; 308-333.

Echeverri Zuluaga J.J., Vázquez Araque N.A., Gallo Garcia Y.M. 2010. Polimorfismo del gen de la somatotropina bovina y su asociación con características de importancia en la producción lechera. *Revista Lasallista de Investigación*. 7:

EFSA. 2008. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food-Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *EFSA Journal*. 6: 724.

EPA U.S.E.P.A., 1999. Compendium of Methods for the Determination of Toxic Organic Compounds in Ambient Air. Cincinnati, 84 p.

FAO/OMS. 2006. Programa Conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Propuestas. 4: 25.

Farhadian A., Jinap S., Abas F., Sakar Z.I. 2010. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meat. *Food Control*. 21: 606-610.

Finardi S., Radice P., Cecinato A., Gariazzo C., Gherardi M., Romagnoli P. 2017. Seasonal variation of PAHs concentration and source attribution through diagnostic ratios analysis. *Urban Climate*. 22: 19-34.

Fu X.-W., Li T.-Y., Ji L., Wang L.-L., Zheng L.-W., Wang J.-N., Zhang Q. 2018. Occurrence, sources and health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils around oil wells in the border regions between oil fields and suburbs. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 157: 276-284.

García Londoño V.A., Reynoso C.M., Resnik S. 2017. Polycyclic aromatic hydrocarbons in milk powders marketed in Uruguay. *Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance*. 10: 284-291.

Gathercole J., Reis M.G., Agnew M., Reis M.M., Humphrey R., Harris P., Clerens S., Haigh B., Dyer J.M. 2017. Molecular modification associated with the heat treatment of bovine milk. *International Dairy Journal*. 73: 74-83.

Girelli A.M., Sperati D., Tarola A.M. 2014. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Italian milk by HPLC with fluorescence detection. *Food Additives and*

Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment. 31: 703-710.

Gonçalves J.L., Tomazi T., Barreiro J.R., Beuron D.C., Arcari M.A., Lee S.H.I., Martins C.M.d.M.R., Araújo Junior J.P., Santos M.V.d. 2016. Effects of bovine subclinical mastitis caused by *Corynebacterium* spp. on somatic cell count, milk yield and composition by comparing contralateral quarters. *The Veterinary Journal*. 209: 87-92.

Grandos Conde C., Acevedo Correa D., Torres Gallo R. 2012. Calidad de la leche y del suero costeño de los municipios Turbaco, Arjona y Carmen de Bolívar-Colombia. *Revista Lasallista de Investigación*. 9: 132-137.

Grova N., Feidt C., Laurent C., Rychen G. 2002. [¹⁴C] Milk, urine and faeces excretion kinetics in lactating goats after an oral administration of [¹⁴C]polycyclic aromatic hydrocarbons. *International Dairy Journal*. 12: 1025-1031.

Grova N., Laurent C., Feidt C., Rychen G., Laurent F., Lichtfouse E. 2000. Gas chromatography-mass spectrometry study of polycyclic aromatic hydrocarbons in grass and milk from urban and rural farms. *European Journal of Mass Spectrometry*. 6: 457-460.

Grova N., Monteau F., Le Bizec B., Feidt C., Andre F., Rychen G. 2005. Determination of phenanthrene and hydroxyphenanthrenes in various biological matrices at trace levels using gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of analytical toxicology*. 29: 175-181.

Guiavarc'h Y.P., Chahin A., Dziurla M.-A., Toussaint H., Feidt C., Rychen G. 2010. Evaluation of small dairy ruminant exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: A biomarker approach. *Small Ruminant Research*. 91: 141-152.

Gutiérrez R., Vega S., Ortiz R., Pérez J.J., Schettino B. 2015. Presence of PAHs in milk of industrial farms from Tizayuca, Hidalgo, Mexico. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*. 50: 317-321.

Höner A.; 2001; Chapter 4 Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) metabolites; Elsevier Science B.V.; 99-121.

Hu H., Kan H., Kearney G.D., Xu X. 2015. Associations between exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and glucose homeostasis as well as metabolic syndrome in nondiabetic adults. *Science of The Total Environment*. 505: 56-64.

Hurtado L. 2016. Cuantificación de la deforestación de coberturas boscosas a partir del análisis de vegetación fotosintética y modelos automcu. Caso de estudio Orinoquia de Colombia. *Revista de Topografía AZIMUT*. 7: 15-21.

Huzlik J., Bozek F., Pawelczyk A., Licbinsky R., Naplavova M., Pondelicek M. 2017. Identifying risk sources of air contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons. *Chemosphere*. 183: 139-146.

IARC, 2010. Some Non heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures. 1 p.

ICA. 2018. Instituto Colombiano Agropecuario. Censo Pecuario Nacional www.ica.gov.co.

ICONTEC.2001, Norma técnica colombiana NTC 4978: Leche y productos lácteos. Determinación de la acidez titulable (Método de referencia). . Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación.Colombia.

ICONTEC. 2004. Norma tecnica colombiana NTC 4979: Leche y productos lacteos: determinacion del contenido de solidos totales en leche, crema de leche, leche evaporada, leche condensada azucarada, arequipe, dulce de leche, helados y quesos (metodos de referencia). Icontec,

IDEAM;Boletín climatológico mensual; 2014-2015; www.ideam.gov.co

Ifegwu O.C., Anyakora C.; 2015; Chapter Six - Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Part I. Exposure; Elsevier; 277-304.

INEN.2015, NormaTécnica Ecuatoriana 9. Leche cruda. Requisitos Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización.Ecuador.

ISO.2009, ISO 5764:2009: Milk -- Determination of freezing point -Thermistor cryoscope method (Reference method). International Organization for Standardization.Ginebra-Suiza.

Jensen R.G., Ferris A.M., Lammi-Keefe C.J. 1991. The Composition of Milk Fat1. *Journal of Dairy Science*. 74: 3228-3243.

Jesús Pérez J., León S.V.y., Gutiérrez R., López Y., Faure R., Escobar A. 2012. Polychlorinated biphenyls (PCBs) residues in milk from an agroindustrial zone of Tuxpan, Veracruz, Mexico. *Chemosphere*. 89: 404-408.

Jiménez Suárez G., Villegas Pomarez J., Calderón Rangel A., Rodríguez Rodríguez V., Maza Angulo L., Vergara Garay O. 2016. Raw milk quality in Northwestern Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 29: 210-217.

Kampire E., Kiremire B.T., Nyanzi S.A., Kishimba M. 2011. Organochlorine pesticide in fresh and pasteurized cow's milk from Kampala markets. *Chemosphere*. 84: 923-927.

Kargar N., Matin G., Matin A.A., Buyukisik H.B. 2017. Biomonitoring, status and source risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) using honeybees, pine tree leaves, and propolis. *Chemosphere*. 186: 140-150.

Katsoyiannis A., Breivik K. 2014. Model-based evaluation of the use of polycyclic aromatic hydrocarbons molecular diagnostic ratios as a source identification tool. *Environmental Pollution*. 184: 488-494.

Kim A., Park M., Yoon T.K., Lee W.S., Ko J.-J., Lee K., Bae J. 2011. Maternal exposure to benzo[b]fluoranthene disturbs reproductive performance in male offspring mice. *Toxicology Letters*. 203: 54-61.

Kim K.-H., Jahan S.A., Kabir E., Brown R.J.C. 2013. A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. *Environment International*. 60: 71-80.

Kishikawa N., Wada M., Kuroda N., Akiyama S., Nakashima K. 2003. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in milk samples by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography B*. 789: 257-264.

Lainé A., Bastin C., Grelet C., Hammami H., Colinet F.G., Dale L.M., Gillon A., Vandenplas J., Dehareng F., Gengler N. 2017. Assessing the effect of pregnancy stage on milk composition of dairy cows using mid-infrared spectra. *Journal of Dairy Science*. 100: 2863-2876.

Lapole D., Rychen G., Grova N., Monteau F., Le Bizec B., Feidt C. 2007. Milk and Urine Excretion of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Their Hydroxylated Metabolites After a Single Oral Administration in Ruminants. *Journal of Dairy Science*. 90: 2624-2629.

Lee J., Jeong J.-H., Park S., Lee K.-G. 2018. Monitoring and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in processed foods and their raw materials. *Food Control*. 92: 286-292.

Liu J., Zhang L., Winterroth L.C., Garcia M., Weiman S., Wong J.W., Sunwoo J.B., Nadeau K.C. 2013. Epigenetically mediated pathogenic effects of phenanthrene on regulatory T cells. *Journal of toxicology*. 2013:

Lutz S., Feidt C., Monteau F., Rychen G., Le Bizec B., Jurjanz S. 2006. Effect of exposure to soil-bound polycyclic aromatic hydrocarbons on milk contaminations of parent compounds and their monohydroxylated metabolites. *Journal of agricultural and food chemistry*. 54: 263-268.

MADR.2006, Decreto 616 de 2006. Por el cual se expide el Reglamento Técnico sobre los requisitos que debe cumplir la leche para el consumo humano que se obtenga, procese,

envase, transporte, comercializa, expendo, importe o exporte en el país. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y Ministerio de la Protección Social. Bogotá-Colombia.

MADR.2012, Resolución 017 de 2012. Por la cual se establece el sistema de pago de la leche cruda al proveedor. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Bogotá-Colombia.

Magariños H. 2000. Producción higiénica de la leche cruda. Guatemala: Producción y Servicios Incorporados. 6: 96.

Mahmoudpour M., Mohtadinia J., Ansarin M., Nemati M. 2016. Dispersive liquid-liquid microextraction for HPLC-UV determination of PAHs in milk. *Journal of AOAC International*. 99: 527-533.

Martín Tornero E., Espinosa-Mansilla A., Muñoz de la Peña A., Durán Merás I. 2018. Phenanthrene metabolites determination in human breast and cow milk by combining elution time-emission fluorescence data with multiway calibration. *Talanta*. 188: 299-307.

Martínez-Borraz A., Moya-Camarena S.Y., González-Ríos H., Hernández J., Pinelli-Saavedra A. 2010. Contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) en leche de ganado lechero Holstein estabulado en el noroeste de México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*. 1: 221-235.

Martinez M.M., Gomez C.A. 2013. Calidad composicional e higiénica de la leche cruda recibida en industrias lácteas de Sucre, Colombia. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA*. 11: 93-100.

Martorell I., Perelló G., Martí-Cid R., Castell V., Llobet J.M., Domingo J.L. 2010. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in foods and estimated PAH intake by the population of Catalonia, Spain: Temporal trend. *Environment International*. 36: 424-432.

Mastandrea C., Chichizola C., Ludueña B., Sánchez H., Álvarez H., Gutiérrez A. 2005. Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores biológicos. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*. 39: 27-36.

Mastral A., Callen M., Garcia T. 2000. Toxic organic emissions from coal combustion. *Fuel Processing Technology*. 67: 1-10.

Merhi M., Demur C., Racaud-Sultan C., Bertrand J., Canlet C., Estrada F.B.Y., Gamet-Payraastre L. 2010. Gender-linked haematopoietic and metabolic disturbances induced by a pesticide mixture administered at low dose to mice. *Toxicology*. 267: 80-90.

Milkotronic, 2012, LACTOSCAN MCC: Analizador de Leche Pantalla LCD 4 líneas x 16 caracteres, Milkotronic Ltd

Moon H.-B., Lee D.-H., Lee Y.S., Kannan K. 2012. Occurrence and accumulation patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons and synthetic musk compounds in adipose tissues of Korean females. *Chemosphere*. 86: 485-490.

Morales A., Leon J., Cárdenas E., Afanador G., Carulla J. 2013. Composición química de la leche, digestibilidad in vitro de la materia seca y producción en vacas alimentadas con gramíneas solas o asociadas con *Lotus uliginosus*. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*. 60: 32.

MPS.2011, Decreto 1880 Por el cual se señalan los requisitos para la comercialización de leche cruda para consumo humano directo en el territorio nacional Bogotá-Colombia.

MPS M.2007, Por medio de la cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano.

MSP.1994, Decreto No 315/994: Reglamento Bromatológico Nacional:IMPO. Ministerio de Salud Pública, Ministerio de Economía y Finanzas, Ministerio de Industria, Energía y Minería, Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca.Montevideo-Uruguay.116.

Muehlhoff E., Bennett A., McMahon D. 2013. Milk and dairy products in human nutrition. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO),

Muthusamy S., Peng C., Ng J.C. 2018. Genotoxicity evaluation of multi-component mixtures of polyaromatic hydrocarbons (PAHs), arsenic, cadmium, and lead using flow cytometry based micronucleus test in HepG2 cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 827: 9-18.

Naccari C., Cristani M., Giofrè F., Ferrante M., Siracusa L., Trombetta D. 2011. PAHs concentration in heat-treated milk samples. *Food Research International*. 44: 716-724.

Nie J., Shi J., Duan X., Wang B., Huang N., Zhao X. 2014. Health risk assessment of dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in Taiyuan, China. *Journal of Environmental Sciences*. 26: 432-439.

Nieto Cevallos C., 2004. Determinación de dióxido de cloro como preservante de leche cruda y efectos sobre características físico-químicas, Universidad de Guayaquil, 122 pp.

Ounnas F., Jurjanz S., Dziurla M.A., Guiavarc'h Y., Feidt C., Rychen G. 2009. Relative bioavailability of soil-bound polycyclic aromatic hydrocarbons in goats. *Chemosphere*. 77: 115-122.

Paludetti L.F., Kelly A.L., O'Brien B., Jordan K., Gleeson D. 2018. The effect of different precooling rates and cold storage on milk microbiological quality and composition. *Journal of Dairy Science*.

Parra A., Jorge L., Herrera Diaz J.A., Patiño Burbano R.E., Silva Sakzuk J.E., Cuadrado Capella H.R., Rodríguez Bautista J.L. 2015. Caracterización de la presencia de compuestos hidrocarburos aromáticos polinucleares (HAP) en leche bovina de regiones lecheras de Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias (Suplemento Epidemiología y Salud Pública)*. Resúmenes. 88.

Perez L. 2011. La producción de leche. El libro blanco de la leche y los productos lácteos. Estrada MM (ed). Litho Offset Imprenta México, DF. pp. 10-26.

Peters Z.J., Nykamp J.A., Passaperuma K., Carlson J.C., DeWitte-Orr S.J., Greenberg B.M., Bols N.C. 2007. Effect of copper on the cytotoxicity of phenanthrene and 9,10-phenanthrenequinone to the human placental cell line, JEG-3. *Reproductive Toxicology*. 23: 513-520.

Pirela M., Bravo A.P., Urdaneta M.M., Mora G.C., Colmenares E.V., Nava S.Z. 2010. Producción y calidad de la leche de vacas Criollo Limonero suplementadas con harina de frutos de samán (*Pithecellobium saman* (Jacq.) Benth). *Revista de la Facultad de Agronomía*. 27: 4.

Plachá D., Raclavská H., Matýsek D., Rummeli M.H. 2009. The polycyclic aromatic hydrocarbon concentrations in soils in the Region of Valasske Mezirici, the Czech Republic. *Geochemical Transactions*. 10:

Pongpiachan S., Hattayanone M., Tipmanee D., Suttinun O., Khumsup C., Kittikoon I., Hirunyatrakul P. 2018. Chemical characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in 2013 Rayong oil spill-affected coastal areas of Thailand. *Environmental Pollution*. 233: 992-1002.

Puente de la Cruz L.N., 2018. Validación y determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en leche materna, usando cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa (GC-MS/MS), Universidad de Cartagena, Cartagena de Indias-Colombia. 53 pp.

Pulkralova J., Stupak M., Svarcova A., Rossner P., Rossnerova A., Ambroz A., Sram R., Hajslova J. 2016. Relationship between atmospheric pollution in the residential area and concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in human breast milk. *Science of The Total Environment*. 562: 640-647.

Purcaro G., Moret S., Conte L.S. 2013. Overview on polycyclic aromatic hydrocarbons: Occurrence, legislation and innovative determination in foods. *Talanta*. 105: 292-305.

Qin Y.Y., Leung C.K.M., Leung A.O.W., Zheng J.S., Wong M.H. 2011. Persistent organic pollutants in food items collected in Hong Kong. *Chemosphere*. 82: 1329-1336.

Quddus Khan M.A., Al-Ghais S.M., Catalin B., Khan Y.H.; 2005; Chapter 12 Effects of petroleum hydrocarbons on aquatic animals; Elsevier; 159-185.

Quijano Parra A., Meléndez Gélvez I. 2014. Identificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (haps) en el aire de Cúcuta-Colombia: Efecto gen tóxico. *Revista EIA*. 11:

Quiroz-Valiente J., Zurita L., Rivera L., Arredondo M., Granados G., Hernández J. 2016. Variación de la composición de la leche de vacas durante diferentes épocas climáticas en el trópico húmedo de México. variation of milk composition of cows at different season in the humid tropics of Mexico. *Directorio de Instituciones Participantes*. 80.

Ramesh A., Archibong A.E., Huderson A.C., Diggs D.L., Myers J.N., Hood D.B., Rekha Devi P.V., Niaz M.S.; 2012; Chapter 63 - Polycyclic aromatic hydrocarbons; Academic Press; Boston; 797-809.

Ré-Poppi N., Santiago-Silva M. 2005. Polycyclic aromatic hydrocarbons and other selected organic compounds in ambient air of Campo Grande City, Brazil. *Atmospheric Environment*. 39: 2839-2850.

Revelli G.R., Sbodio O.A., Tercero E.J. 2011. Estudio y evolución de la calidad de leche cruda en tambos de la zona noroeste de Santa Fe y sur de Santiago del Estero, Argentina (1993-2009). *RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias*. 37: 128-139.

Rey-Salgueiro L., García-Falcón M.S., Martínez-Carballo E., González-Barreiro C., Simal-Gándara J. 2008. The use of manures for detection and quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons and 3-hydroxybenzo[a]pyrene in animal husbandry. *Science of The Total Environment*. 406: 279-286.

Rivera J., Cuartas C., Naranjo J., Tafur O., Hurtado E., Arenas F., Chará J., Murgueitio E. 2015. Efecto de la oferta y el consumo de *Tithonia diversifolia* en un sistema silvopastoril intensivo (SSPi), en la calidad y productividad de leche bovina en el piedemonte Amazónico colombiano. *Liv. Res. Rural Dev*. 27: 189.

Rodil R., Schellin M., Popp P. 2007. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and beverages using membrane-assisted solvent extraction in combination with large volume injection-gas chromatography-mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*. 1163: 288-297.

Rodriguez C.E., Gómez D.F. 2013. Efecto de la suplementación con diferentes dosis de grasa protegida sobre parámetros productivos y composicionales de la leche bovina. *Zootecnia Tropical*. 31: 299-310.

Rodríguez V.C.R., Ruiz A.F.A., Rangel A.C. 2015. Calidad de leches crudas en sistemas doble propósito en Córdoba (Colombia), en condiciones de máxima y mínima precipitación. *Revista Ciencia y Agricultura*. 12: 51-58.

Santonicola S., De Felice A., Cobellis L., Passariello N., Peluso A., Murru N., Ferrante M.C., Mercogliano R. 2017. Comparative study on the occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in breast milk and infant formula and risk assessment. *Chemosphere*. 175: 383-390.

SCFI.2003, Secretaria de Comercio y Fomento Industrial. Norma oficial mexicana NOM-155-SCFI-2003: Leche, fórmula láctea y producto combinado-Denominación, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. . Secretaria de comercio y fomento industrial.Mexico D.F.

Schulte P.A., Hauser J.E. 2012. The use of biomarkers in occupational health research, practice, and policy. *Toxicology Letters*. 213: 91-99.

SDA;Secretaria de Desarrollo Agroeconómico-Anuario Estadístico Agropecuario. Gobernación del Meta; 2015; <http://hdl.handle.net/11438/8506>

Sivapathasundaram S., Sauer M.J., Ioannides C. 2003. Xenobiotic conjugation systems in deer compared with cattle and rat. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 134: 169-173.

Sugahara Y., Kawaguchi M., Itoyama T., Kurokawa D., Tosa Y., Kitamura S.-I., Handoh I.C., Nakayama K., Murakami Y. 2014. Pyrene induces a reduction in midbrain size and abnormal swimming behavior in early-hatched pufferfish larvae. *Marine Pollution Bulletin*. 85: 479-486.

Sun J., Shen Z., Zeng Y., Niu X., Wang J., Cao J., Gong X., Xu H., Wang T., Liu H., Yang L. 2018. Characterization and cytotoxicity of PAHs in PM_{2.5} emitted from residential solid fuel burning in the Guanzhong Plain, China. *Environmental Pollution*. 241: 359-368.

Tarafdar A., Sinha A. 2018. Public health risk assessment with bioaccessibility considerations for soil PAHs at oil refinery vicinity areas in India. *Science of The Total Environment*. 616-617: 1477-1484.

Tato L., Tremolada P., Ballabio C., Guazzoni N., Parolini M., Caccianiga M., Binelli A. 2011. Seasonal and spatial variability of polychlorinated biphenyls (PCBs) in vegetation and cow milk from a high altitude pasture in the Italian Alps. 2656-64.

Teranishi M., Toyooka T., Ohura T., Masuda S., Ibuki Y. 2010. Benzo[a]pyrene exposed to solar-simulated light inhibits apoptosis and augments carcinogenicity. *Chemico-Biological Interactions*. 185: 4-11.

Tian K., Bao H., Zhang X., Shi T., Liu X., Wu F. 2018. Residuals, bioaccessibility and health risk assessment of PAHs in winter wheat grains from areas influenced by coal combustion in China. *Science of The Total Environment*. 618: 777-784.

Tobiszewski M., Namieśnik J. 2012. PAH diagnostic ratios for the identification of pollution emission sources. *Environmental Pollution*. 162: 110-119.

UE, 2011. Reglamento (UE) No. 835/2011 de la comisión de 19 de agosto de 2011. Contenido máximo de hidrocarburos aromáticos policíclicos en los productos alimenticios. p.

Valencia Denicia E., Ramírez Castillo M.L. 2009. La industria de la leche y la contaminación del agua. 27-31.

Vives I., Grimalt J.O., Guitart R. 2001. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos y la salud humana. *Apuntes de Ciencia y Tecnología*. 3: 45-51.

Walker S.A., Whitten L.B., Seals G.B., Lee W.E., Archibong A.E., Ramesh A. 2006. Inter-species comparison of liver and small intestinal microsomal metabolism of fluoranthene. *Food and Chemical Toxicology*. 44: 380-387.

Wang L., Liu A., Zhao Y., Mu X., Huang T., Gao H., Ma J. 2018. The levels of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in human milk and exposure risk to breastfed infants in petrochemical industrialized Lanzhou Valley, Northwest China. *Environmental Science and Pollution Research*. 25: 16754-16766.

Wenzl T., Simon R., Anklam E., Kleiner J. 2006. Analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in food and the environment needed for new food legislation in the European Union. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 25: 716-725.

WingChing-Jones R., Mora-Chaves E. 2013. Composición de la leche entera cruda de bovinos antes y después del filtrado. *Agronomía Mesoamericana*. 24: 203-207.

Woudneh M.B., Benskin J.P., Grace R., Hamilton M.C., Magee B.H., Hoeger G.C., Forsberg N.D., Cosgrove J.R. 2016. Quantitative determination of hydroxy polycyclic aromatic hydrocarbons as a biomarker of exposure to carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Chromatography A*. 1454: 93-100.

Xia Z., Duan X., Qiu W., Liu D., Wang B., Tao S., Jiang Q., Lu B., Song Y., Hu X. 2010. Health risk assessment on dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Taiyuan, China. *Science of The Total Environment*. 408: 5331-5337.

Xu X., Liu J., Huang C., Lu F., Chiung Y.M., Huo X. 2015. Association of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and lead co-exposure with child physical growth and development in an e-waste recycling town. *Chemosphere*. 139: 295-302.

Yunker M.B., Macdonald R.W., Vingarzan R., Mitchell R.H., Goyette D., Sylvestre S. 2002. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry*. 33: 489-515.

Zanieri L., Galvan P., Checchini L., Cincinelli A., Lepri L., Donzelli G.P., Del Bubba M. 2007. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in human milk from Italian women: Influence of cigarette smoking and residential area. *Chemosphere*. 67: 1265-1274.

Zavala J. 2005. Aspectos nutricionales y tecnológicos de la leche. Dirección General de Promoción Agraria. 60.

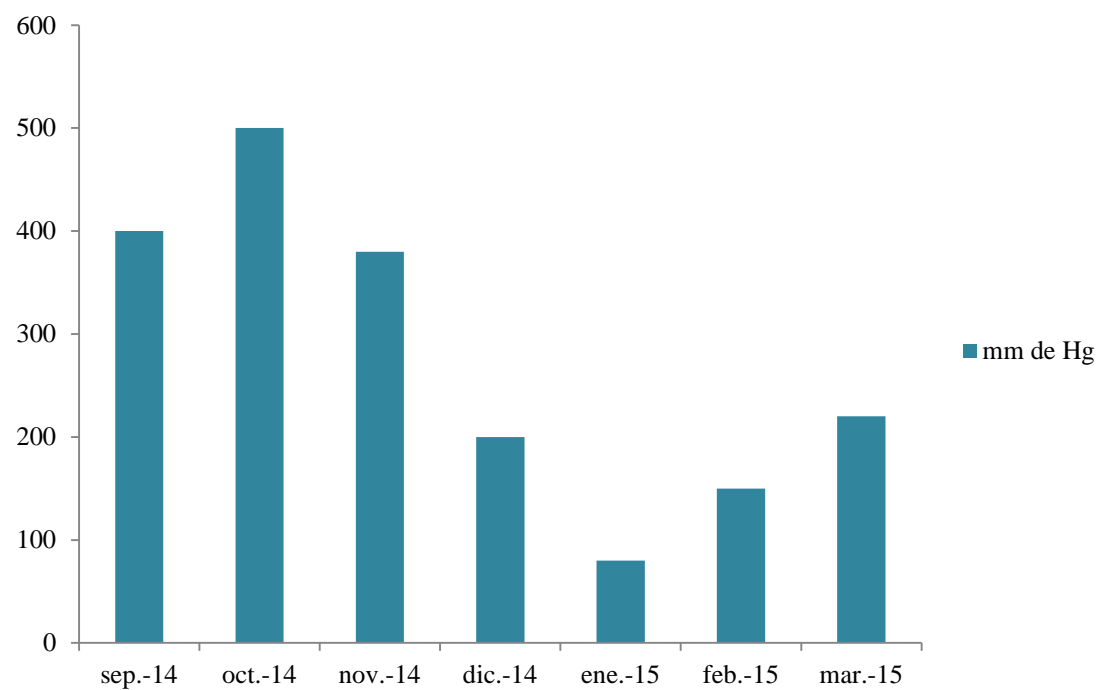
Zhang X., Li X., Jing Y., Fang X., Zhang X., Lei B., Yu Y. 2017. Transplacental transfer of polycyclic aromatic hydrocarbons in paired samples of maternal serum, umbilical cord serum, and placenta in Shanghai, China. *Environmental Pollution*. 222: 267-275.

Zhang Y., Liu D., Liu X., Hang F., Zhou P., Zhao J., Zhang H., Chen W. 2018. Effect of temperature on casein micelle composition and gelation of bovine milk. *International Dairy Journal*. 78: 20-27.

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. PRECIPITACIÓN MENSUAL (MM HG) SEPTIEMBRE 2014 A MARZO 2015 EN EL DEPARTAMENTO DEL META.	117
ANEXO 2. CONCENTRACIÓN DE HAPS (VALORES EXPRESADOS EN MEDIA \pm SEM NG/G DE LECHE)	118
ANEXO 3. CONCENTRACIÓN DE HAPS (VALORES EXPRESADOS EN MEDIA \pm SEM NG/G DE LECHE) SEGÚN MUNICIPIO.....	119
ANEXO 4. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES HAPS	120
ANEXO 5. MATRIZ COMPONENTES PRINCIPALES HAPS	121
ANEXO 6. NIVELES DE HAPS (VALORES EXPRESADOS EN MEDIA \pm SEM NG/G DE LECHE) SEGÚN ÉPOCA.....	122
ANEXO 7. NIVELES DE HAPS (VALORES EXPRESADOS EN MEDIA \pm SEM NG/G DE LECHE) SEGÚN AÑO.....	123
ANEXO 8. ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS Y HAPS. VALORE EN NEGRILLA INDICAN CORRELACIÓN SIGNIFICATIVA.	124
ANEXO 9. RATIOS DIAGNÓSTICOS SEGÚN ÉPOCA DE PRECIPITACIÓN ...	125

Anexo 1. Precipitación mensual (mm Hg) septiembre 2014 a marzo 2015 en el Departamento del Meta.



Fuente: IDEAM -Boletín climatológico mensual 2014-2015

Anexo 2. Concentración de HAPs (valores expresados en media \pm SEM ng/g de leche)

Compuesto	Abreviatura	n	Media \pm SEM	Mediana
Naftaleno	NA	18	0.083 \pm 0.029	0.091
Acenaftileno	ACL	26	0.104 \pm 0.027	0.117
Acenafteno	AC	17	0.302 \pm 0.127	0.403
Fluoreno	FL	22	0.270 \pm 0.077	0.303
Fenantreno	PHE	23	1.681 \pm 0.297	2.69
Antraceno	AN	24	2.986 \pm 0.520	4.80
Fluoranteno	FA	24	0.832 \pm 0.206	1.053
Pireno	PY	21	1.010 \pm 0.247	2.157
Ciclopenta(cd)pireno	CPP	32	0.167 \pm 0.027	0.239
Benzo(a)antraceno	BaA	27	0.142 \pm 0.026	0.253
Criseno	CHR	33	0.056 \pm 0.010	0.059
5-Metilcriseno	5-MCH	27	0.026 \pm 0.005	0.045
Benzo(b)fluoranteno	BbFA	32	0.047 \pm 0.006	0.063
Benzo(k)fluoranteno	BkFA	32	0.045 \pm 0.006	0.061
Benzo(j)fluoranteno	BjFA	32	0.044 \pm 0.005	0.060
Benzo(a)pireno	BaP	17	0.067 \pm 0.019	0.189
Indeno(1.2.3-cd)pireno	IcdP	25	0.047 \pm 0.008	0.063
Σ Total HAPS			7.907 \pm 1.122	8.147
Σ HAPS 2 Y 3 Anillos			5.425 \pm 1.004	5.855
Σ HAPS 4 Anillos			2.232 \pm 0.431	2.159
Σ HAPS 5 y 6 Anillos			0.250 \pm 0.294	0.289

Σ Total HAPS: Sumatoria de los 17 HAPs detectados en leche cruda. (HAPs nd: BghiP. DBahA. DBaIP. DBaiP. DBahP. DBaeP) n: Número de muestras con niveles de HAPs.

Anexo 3. Concentración de HAPs (valores expresados en media \pm SEM ng/g de leche) según municipio

Municipio \ HAP	Acacias n=5		Castilla La Nueva n=5		Guamal n=11		San Martín n=3		Cumaral n=6		Medina n=7	
	N	Media \pm SEM	N	Media \pm SEM	N	Media \pm SEM	N	Media \pm SEM	N	Media \pm SEM	N	Media \pm SEM
NA	2	0.201 \pm 0.177	2	0.038 \pm 0.026	2	0.079 \pm 0.068	1	0.022 \pm 0.022	2	0.016 \pm 0.011	4	0.110 \pm 0.061
ACL	2	0.065 \pm 0.040	3	0.068 \pm 0.034	6	0.133 \pm 0.076	2	0.360 \pm 0.231	4	0.066 \pm 0.030	5	0.072 \pm 0.035
AC	2	0.190 \pm 0.190	2	0.117 \pm 0.080	5	0.501 \pm 0.398	3	1.414 \pm 1.020	1	0.045 \pm 0.045	2	0.079 \pm 0.069
FL	2	0.374 \pm 0.350	2	0.167 \pm 0.119	5	0.314 \pm 0.226	2	0.384 \pm 0.244	4	0.200 \pm 0.091	3	0.272 \pm 0.178
PHE	2	1.630 \pm 1.100	4	2.585 \pm 0.908	3	1.019 \pm 0.613	2	2.258 \pm 1.766	3	1.562 \pm 0.771	4	1.932 \pm 0.752
AN	2	2.909 \pm 1.953	4	4.515 \pm 1.516	3	1.796 \pm 1.086	2	4.187 \pm 3.158	3	2.564 \pm 1.240	5	3.493 \pm 1.320
FA	1	0.170 \pm 0.170	3	0.614 \pm 0.251	6	0.995 \pm 0.458	1	0.156 \pm 0.156	3	0.884 \pm 0.478	4	1.507 \pm 0.954
PY	1	0.511 \pm 0.511	3	0.656 \pm 0.299	5	0.631 \pm 0.349	1	0.594 \pm 0.594	1	0.152 \pm 0.152	6	2.472 \pm 1.051
CPP	2	0.089 \pm 0.058	4	0.053 \pm 0.043	11	0.242 \pm 0.047	3	0.393 \pm 0.053	5	0.162 \pm 0.070	3	0.129 \pm 0.099
BaA	2	0.068 \pm 0.043	4	0.331 \pm 0.104	5	0.055 \pm 0.032	1	0.046 \pm 0.046	5	0.202 \pm 0.082	5	0.161 \pm 0.070
CHR	3	0.029 \pm 0.017	4	0.077 \pm 0.026	7	0.040 \pm 0.017	2	0.021 \pm 0.012	6	0.079 \pm 0.029	7	0.101 \pm 0.045
5-MCH	3	0.016 \pm 0.009	3	0.027 \pm 0.014	6	0.0241 \pm 0.009	3	0.040 \pm 0.016	4	0.033 \pm 0.012	4	0.031 \pm 0.018
BbFA	2	0.018 \pm 0.011	5	0.088 \pm 0.017	8	0.038 \pm 0.008	3	0.056 \pm 0.010	5	0.057 \pm 0.019	4	0.042 \pm 0.018
BkFA	2	0.016 \pm 0.010	5	0.083 \pm 0.017	8	0.036 \pm 0.008	3	0.053 \pm 0.010	5	0.055 \pm 0.019	4	0.040 \pm 0.017
BjFA	2	0.017 \pm 0.011	5	0.073 \pm 0.014	8	0.037 \pm 0.008	3	0.052 \pm 0.009	5	0.053 \pm 0.017	4	0.04 \pm 0.017
BaP	1	0.006 \pm 0.006	2	0.011 \pm 0.007	7	0.132 \pm 0.046	1	0.089 \pm 0.089	3	0.104 \pm 0.063	2	0.009 \pm 0.006
IcdP	0	nd	5	0.089 \pm 0.020	6	0.041 \pm 0.016	2	0.036 \pm 0.019	5	0.090 \pm 0.038	2	0.026 \pm 0.017

n: Número de muestras analizadas. N: Número de muestras con detección de HAP nd: Valores por debajo del límite de detección.

Anexo 5. Matriz componentes principales HAPs

	Componentes		
	1	2	3
Benzo(b)fluoranteno	.954	.120	
Benzo(k)fluoranteno	.953	.117	
Benzo(j)fluoranteno	.949	.123	
Benzo(a)antraceno	.904	.121	.190
Indeno(1.2.3-cd)pireno	.765	.190	
Ciclopenta(cd)pireno	-.554	.158	.185
5-Metilcriseno	.445	.442	
Benzo(a)pireno	-.210	.206	
Fluoreno		.937	
Acenafteno		.904	
Acenaftileno		.891	
Naftaleno		.797	
Antraceno	.537	.774	
Fenantreno	.547	.768	
Fluoranteno	-.116		.942
Criseno	.113		.916
Pireno	.117		.819

Anexo 6. Niveles de HAPs (valores expresados en media \pm SEM ng/g de leche) según época.

Municipio Compuesto	Ascendente n=13			Descendente n=10			Invierno n=12			Verano n=9		
	N	Media \pm SEM	Mediana	N	Media \pm SEM	Mediana	N	Media \pm SEM	Mediana	N	Media \pm SEM	Mediana
NA	7	0.129 \pm 0.062	0.103	3	0.069 \pm 0.050	0.133	4	0.016 \pm 0.009	0.050	4	0.121 \pm 0.099	0.087
ACL	8	0.163 \pm 0.065	0.200	4	0.056 \pm 0.024	0.137	8	0.108 \pm 0.064	0.071	6	0.064 \pm 0.024	0.100
AC	5	0.507 \pm 0.337	0.778	3	0.137 \pm 0.077	0.545	6	0.330 \pm 0.280	0.126	3	0.154 \pm 0.109	0.403
FL	9	0.408 \pm 0.201	0.307	5	0.164 \pm 0.096	0.221	4	0.176 \pm 0.084	0.520	4	0.315 \pm 0.195	0.456
PHE	6	2.306 \pm 0.527	2.38	4	1.002 \pm 0.472	2.59	4	1.290 \pm 0.603	3.91	5	2.051 \pm 0.769	2.69
AN	10	4.101 \pm 0.933	4.24	4	1.816 \pm 0.840	4.74	5	2.298 \pm 1.054	6.27	5	3.590 \pm 1.325	4.84
FA	10	0.931 \pm 0.245	1.041	6	1.379 \pm 0.703	1.392	4	0.577 \pm 0.377	1.138	4	0.421 \pm 0.172	0.938
PY	8	1.254 \pm 0.330	2.295	4	1.279 \pm 0.799	1.979	6	0.7333 \pm 0.415	0.682	3	0.724 \pm 0.459	2.866
CPP	9	0.155 \pm 0.053	0.288	7	0.201 \pm 0.070	0.251	10	0.178 \pm 0.048	0.215	6	0.129 \pm 0.054	0.194
BaA	9	0.181 \pm 0.048	0.221	5	0.097 \pm 0.047	0.297	7	0.104 \pm 0.047	0.73	6	0.185 \pm 0.072	0.273
CHR	11	0.055 \pm 0.011	0.069	6	0.077 \pm 0.037	0.070	10	0.046 \pm 0.015	0.038	6	0.048 \pm 0.017	0.058
5-MCH	9	0.042 \pm 0.011	0.058	5	0.019 \pm 0.008	0.031	8	0.019 \pm 0.006	0.022	5	0.023 \pm 0.009	0.049
BbFA	11	0.062 \pm 0.011	0.063	7	0.038 \pm 0.011	0.045	9	0.041 \pm 0.009	0.052	5	0.045 \pm 0.016	0.067
BkFA	11	0.059 \pm 0.011	0.062	7	0.035 \pm 0.010	0.038	9	0.040 \pm 0.009	0.049	5	0.043 \pm 0.015	0.071
BjFA	11	0.057 \pm 0.011	0.057	7	0.035 \pm 0.010	0.045	9	0.040 \pm 0.009	0.048	5	0.042 \pm 0.014	0.067
BaP	7	0.103 \pm 0.042	0.231	2	0.022 \pm 0.019	0.110	3	0.055 \pm 0.034	0.268	5	0.079 \pm 0.051	0.028
IcdP	7	0.068 \pm 0.022	0.122	6	0.036 \pm 0.012	0.050	8	0.041 \pm 0.012	0.048	4	0.036 \pm 0.017	0.068
Σ Total HAPs		10.579 \pm 2.103	8.807		6.462 \pm 2.173	3.945		6.093 \pm 2.217	1.195	9	8.073 \pm 2.539	9.588
Σ HAPs 2 y 3 anillos		7.613 \pm 1.993	5.855		3.244 \pm 1.482	4.887		4.219 \pm 2.000	0.256		6.296 \pm 2.433	5.517
Σ HAPs 4 anillos		2.619 \pm 0.512	2.872		3.051 \pm 1.546	1.246		1.658 \pm 0.637	0.559		1.531 \pm 0.587	0.880
Σ HAPs 5 y 6 anillos		0.348 \pm 0.059	0.386		0.167 \pm 0.046	0.289		0.217 \pm 0.055	0.179		0.246 \pm 0.063	0.281

Σ Total HAPS: Sumatoria de los 17 HAPs detectados en leche cruda. (HAPs nd: BghiP. DBahA. DBaIP. DBaiP. DBahP. DBaEP)
n: Número de muestras analizadas. nd: Valores por debajo del límite de detección.

Anexo 7. Niveles de HAPs (valores expresados en media \pm SEM ng/g de leche) según año.

Compuesto	Año	Año 2014 n=31			Año 2015 n=13		
		N	Media \pm SEM	Mediana	N	Media \pm SEM	Mediana
NA		11	0.063 \pm 0.033	0.067	7	0.129 \pm 0.062	0.103
ACL		18	0.079 \pm 0.026	0.105	8	0.163 \pm 0.065	0.200
AC		12	0.217 \pm 0.113	0.240	5	0.507 \pm 0.337	0.778
FL		13	0.213 \pm 0.071	0.299	9	0.408 \pm 0.201	0.307
PHE		13	1.418 \pm 0.353	2.99	10	2.306 \pm 0.527	2.38
AN		14	2.518 \pm 0.616	5.22	10	4.101 \pm 0.933	4.24
FA		14	0.790 \pm 0.275	1.06	10	0.931 \pm 0.245	1.04
PY		13	0.907 \pm 0.324	1.569	8	1.254 \pm 0.330	2.295
CPP		23	0.171 \pm 0.033	0.232	9	0.155 \pm 0.053	0.288
BaA		18	0.125 \pm 0.031	0.262	9	0.181 \pm 0.048	0.221
CHR		22	0.057 \pm 0.014	0.058	11	0.055 \pm 0.011	0.069
5-MCH		18	0.020 \pm 0.004	0.030	9	0.042 \pm 0.011	0.058
BbFA		21	0.041 \pm 0.007	0.063	11	0.062 \pm 0.011	0.063
BkFA		21	0.039 \pm 0.006	0.061	11	0.059 \pm 0.011	0.062
BjFA		21	0.039 \pm 0.006	0.062	11	0.057 \pm 0.010	0.057
BaP		10	0.052 \pm 0.020	0.061	7	0.103 \pm 0.042	0.231
IcdP		18	0.038 \pm 0.007	0.057	7	0.068 \pm 0.022	0.122
Σ Total HAPs			6.787 \pm 1.295	8.477		10.579 \pm 2.103	8.807
Σ HAPs 2 y 3 anillos			4.508 \pm 1.135	5.511		7.613 \pm 1.993	7.327
Σ HAPs 4 anillos			2.070 \pm 0.575	0.880		2.619 \pm 0.512	2.872
Σ HAPs 5 y 6 anillos			0.209 \pm 0.031	0.262		0.348 \pm 0.059	0.386

Σ Total HAPS: Sumatoria de los 17 HAPs detectados en leche cruda. (HAPs nd: BghiP. DBahA. DBaIP. DBaiP. DBahP. DBaeP)
n: Número de muestras analizadas.

Anexo 8. Análisis de correlación características físico químicas y HAPs. Valore en negrilla indican correlación significativa.

Variable	TEMPERATURA	ACIDEZ	pH	DENSIDAD	GRASA	PROTEINA	S.N.G.	S.T.	NA	ACL	AC	FL	PHE	AN	FA	PY	CPP	BaA	CHR	5-MCH	BbFA	BkFA	BjFA	BaP	IcdP
TEMPERATURA																									
ACIDEZ	0.186																								
pH	-0.493	-0.523																							
DENSIDAD	0.069	-0.004	0.013																						
GRASA	-0.047	0.141	0.012	0.021																					
PROTEINA	-0.047	-0.134	0.043	0.718	0.532																				
S.N.G.	0.043	0.030	0.032	0.961	0.280	0.829																			
S.T.	0.001	0.115	0.022	0.537	0.853	0.825	0.737																		
NA	-0.132	-0.135	0.042	0.024	0.140	0.165	0.061	0.131																	
ACL	-0.077	-0.152	0.082	-0.179	0.146	0.013	-0.143	0.032	0.579																
AC	-0.049	-0.150	-0.023	-0.083	0.040	0.049	-0.075	-0.010	0.625	0.773															
FL	-0.085	-0.158	0.030	-0.019	0.122	0.128	0.005	0.091	0.854	0.760	0.796														
PHE	-0.089	0.083	-0.063	-0.095	0.113	0.021	-0.057	0.047	0.752	0.724	0.610	0.803													
AN	-0.095	0.085	-0.050	-0.096	0.115	0.022	-0.058	0.047	0.752	0.727	0.609	0.799	0.998												
FA	-0.129	0.013	0.038	-0.133	-0.008	-0.089	-0.141	-0.084	0.205	0.298	0.123	0.343	0.391	0.394											
PY	-0.180	0.024	0.063	-0.029	-0.051	-0.011	-0.039	-0.063	0.289	0.383	0.098	0.218	0.454	0.472	0.724										
CPP	-0.007	-0.157	0.034	-0.175	0.122	-0.024	-0.157	0.004	-0.109	0.317	0.276	0.092	-0.049	-0.050	0.340	0.194									
BaA	-0.073	0.121	-0.044	-0.061	0.089	0.014	-0.029	0.044	0.493	0.583	0.310	0.533	0.847	0.850	0.421	0.571	-0.003								
CHR	-0.047	-0.054	0.033	-0.059	0.084	0.039	-0.045	0.034	0.451	0.489	0.321	0.609	0.646	0.648	0.822	0.659	0.292	0.652							
5-MCH	-0.039	-0.113	0.084	-0.189	0.142	-0.038	-0.153	0.024	0.267	0.802	0.469	0.429	0.505	0.510	0.179	0.327	0.399	0.560	0.337						
BbFA	-0.030	0.115	-0.114	-0.238	0.120	-0.094	-0.200	-0.026	0.312	0.595	0.381	0.463	0.709	0.715	0.470	0.446	0.327	0.806	0.593	0.651					
BkFA	-0.028	0.121	-0.123	-0.226	0.112	-0.088	-0.192	-0.027	0.311	0.588	0.378	0.461	0.709	0.716	0.472	0.448	0.321	0.810	0.595	0.642	0.999				
BjFA	-0.038	0.107	-0.106	-0.232	0.118	-0.088	-0.195	-0.025	0.318	0.601	0.384	0.468	0.706	0.713	0.472	0.453	0.331	0.802	0.592	0.653	0.999	0.998			
BaP	0.014	-0.159	0.033	-0.172	0.043	-0.091	-0.160	-0.051	0.034	0.498	0.376	0.243	0.198	0.193	0.288	0.190	0.495	0.212	0.266	0.433	0.242	0.242	0.245		
IcdP	-0.079	0.120	-0.107	-0.117	0.163	0.013	-0.071	0.075	0.299	0.467	0.391	0.408	0.627	0.616	0.296	0.215	0.301	0.678	0.424	0.529	0.798	0.803	0.792	0.241	

Anexo 9. Ratios diagnósticos según época de precipitación

Ratios	Época			
	Ascendente	Descendente	Invierno	Verano
FA/FA+PY	0.50	0.64	0.35	0.49
AN/AN+PHE	0.64	0.65	0.71	0.64
BaA/BaA+CHR	0.63	0.58	0.49	0.76
POSIBLE FUENTE	Petrogénica, pirogénica y Combustión de hierba, carbón, madera	Petrogénica y Pirogénica	Petrogénica y Pirogénica	Petrogénica, pirogénica y Combustión de hierba, carbón, madera

FA: Fluoranteno, AN: Antraceno, PHE: Fenantreno, BaA: Benzo (a) antraceno, CHR: Criseno